



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

MASTOCITOMAS EM CANÍDEOS: ESTUDO RETROSPECTIVO.

PATRÍCIA RAQUEL DA SILVA NAVEGA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

ORIENTADOR

Presidente

Doutor José Manuel Antunes Ferreira da Silva

Doutora Maria Teresa da Costa

Mendes Vítor Villa de Brito

Vogais

CO-ORIENTADOR

Doutora Maria Isabel Ferreira Neto da Cunha

Fonseca

Dra. Maria Alexandra Costa Basso

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vítor

Villa de Brito

Dra. Maria Alexandra Costa Basso

2011

Lisboa



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

MASTOCITOMAS EM CANÍDEOS: ESTUDO RETROSPECTIVO.

PATRÍCIA RAQUEL DA SILVA NAVEGA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

ORIENTADOR

Presidente

Doutor José Manuel Antunes Ferreira da Silva

Doutora Maria Teresa da Costa

Mendes Vítor Villa de Brito

Vogais

CO-ORIENTADOR

Doutora Maria Isabel Ferreira Neto da Cunha

Fonseca

Dra. Maria Alexandra Costa Basso

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vítor

Villa de Brito

Dra. Maria Alexandra Costa Basso

2011

LISBOA

AGRADECIMENTOS:

À Prof. Doutora Maria Teresa Villa de Brito, por me ter aceitado como sua estagiária, pela sua boa disposição, pelo seu carácter e exigência e, pela orientação prestada nos tempos mais “desorientados”;

À minha co-“orientadeira” Dra Maria Alexandra Basso, por ter aceitado a aventura de orientar a primeira estagiária da sua carreira, pelos questionários, pela boa disposição e pelo exemplo.

À equipa de Médicos Veterinários e Estagiários que me acompanhou durante o estágio no hospital, pela exigência, disponibilidade e partilha de experiências, em especial ao Dr. Gonçalo Vicente pela ajuda na revisão desta dissertação, pelos momentos de “tortura” e aprendizagem.

À equipa de cirurgia, com quem partilhei muitas horas e pude aprender a ver e fazer o que mais gosto; Aos Auxiliares que tanto nos ensinaram e animaram.

À Dona Manuela, Dona Maria do Rosário e Dona Maria Augusta pela disponibilidade e ajuda prestada durante a recolha de dados no laboratório de Anatomia Patológica.

Ao Dr. Hugo Pissarra e Prof. Doutora Isabel Neto pela disponibilidade e amabilidade com que me ajudaram.

À Prof. Doutora Manuela Rodeia e Dra. Ivana Coimbra da “Azevet”, Dr. Assis Costa e equipa da “Clínica Veterinária João XXI”, Dra. Patrícia Sales Luís da “Benavet”, Dra. Emília Reis e Prof. Doutor José Henrique do “Centro Veterinário do Montijo”, pela ajuda na recolha dos dados das fichas clínicas dos animais;

Aos meus pais e irmãos por quererem sempre o melhor para mim mesmo que isso implique sacrifício, por serem a minha âncora e o meu porto de abrigo, porque esta dissertação existe por eles e para eles que sempre acreditaram em mim e me deram as bases para a sua realização e conclusão;

Ao meu namorado, pela paciência infindável antes e durante a realização desta dissertação e por ser quem sou, porque o amor faz milagres...;

Aos meus amigos, o meu “núcleo duro”, que sabem quem são, por terem tornado esta caminhada mais fácil e divertida, mesmo que com altos e baixos e, por serem as pessoas fantásticas que são;

RESUMO

Os mastocitomas são tumores comuns da pele dos cães. Estes tumores representam 16 a 21% de todos os tumores cutâneos e cerca 11-27% de todos os tumores malignos da pele.

O estudo teve como objectivo avaliar as variáveis epidemiológicas, clínicas e histológicas deste tumor em canídeos, em casos analisados na FMV-UTL entre os anos de 2005 e 2010.

Foram consultados todos os relatórios de análise histopatológica com diagnóstico de mastocitoma e os resultados são apresentados na forma de média \pm desvio-padrão e probabilidade, tendo os valores de $p < 0,05$ significado estatístico. Numa primeira fase do estudo foram identificados 299 mastocitomas: 271 casos de tumores solitários e os restantes 28 de tumores múltiplos. Nos tumores solitários as percentagens do grau de malignidade das lesões foram: 27,3% de grau I; 45,0% de grau II e 26,9% de grau III.

Nos mastocitomas múltiplos as percentagens do grau de malignidade das lesões foram: 28,6% tumores de grau I, 35,7% de grau II, 14,3% de grau III, 7,1% de grau I e II e 14,3% de grau II e III.

Numa segunda fase, estudaram-se as fichas clínicas de 98 animais com a forma solitária e de 13 com a forma múltipla. Nos 98 animais com mastocitomas solitários, os dados não evidenciaram associação entre a patologia cutânea e o grau de malignidade ($p=0,810$), ulceração ($p=0,576$), recidiva ($p=0,200$) e metastização ($p=0,263$) das lesões, assim como não se encontrou associação entre a ulceração e o grau de malignidade ($p=0,303$). O grau de malignidade mostrou associação com a sobrevivência dos animais atingidos ($p=0,012$).

A recidiva tumoral surgiu em 46% dos casos e em 14% destes animais ocorreu metastização.

Nos 13 animais com a forma múltipla do mastocitoma, o grau histológico não apresentou associação com a inflamação cutânea ($p=1,000$) e apenas 3 (23,08%) animais morreram em consequência do mastocitoma múltiplo.

Os resultados deste estudo sugerem não haver associação entre a inflamação cutânea e a ocorrência de mastocitoma. Não foi possível estabelecer associação entre o grau de malignidade e as outras variáveis em estudo, em ambas as formas tumorais. Neste estudo, os mastocitomas múltiplos apresentaram um baixo número de casos de recidiva, metastização e morte devida ao tumor o que indicia o baixo potencial maligno destes tumores

Palavras-chave: Cão, mastocitoma, oncologia, tumores de pele, estudo retrospectivo.

ABSTRACT

Mast cell tumours are common skin tumours in dogs. They represent 16 to 21% of all skin tumours and about 11-27% of the malignant skin neoplasms. The aim of this study was to evaluate epidemiological variables, clinical and histological features of this tumour in the dog in cases analysed in the FMV-UTL, between the years of 2005 to 2010. Histopathological reports with diagnosis of mast cell tumor have been retrieved and the results are presented in probability and mean \pm standard deviation. The chosen statistical significance level was set at 5% ($p < 0.05$). In a first phase of this study, 299 mast cell tumors were identified: 271 cases of solitary tumours and the remaining 28 were multiple tumours. In solitary tumours the histologic grading percentage was 27.3% in grade I tumours, 45.0% in grade II tumours and 26.9% in grade III tumours. Multiple mast cell tumours revealed a histologic grading percentage of 28.6% in grade I tumours, 35.7% in grade II tumours, 14.3% in grade III tumours, 7.2% in grade I and II tumours and 14.3% in grade II and III tumours. In the second phase of the study, the clinical reports of 98 animals with solitary tumours and 13 with multiple mast cell tumours were studied. In the 98 animals with solitary mast cell tumours, the results had not shown association between skin inflammation and malignancy grade ($p = 0.810$), ulceration ($p = 0.576$), recurrence ($p = 0.200$) and metastization ($p = 0.263$) as well as ulceration had no association with degree ($p = 0.303$). Tumor grade was associated with animal survival ($p = 0.012$).

Recurrence occurred in 46% of the cases and in 14% of those cases there was metastatic disease. In thirteen animals with multiple mast cells tumour there was no association between grade tumour and cutaneous inflammation ($p = 1.000$) and only three (23.08%) animals died from multiple mast cell tumours.

These results suggest the absence of association between skin inflammation and occurrence of cutaneous mast cell tumours. Tumour grade had not shown association with other variables in both tumoral forms. In this study multiple mast cell tumours were related with decreased rates of recurrence and metastatic development and death in sequence of the tumour this might indicate the low malignant potential of these tumours.

.

Keywords: dog, mast cell tumor, oncology, skin tumors, retrospective study.

Índice geral

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
Índice geral	xi
Índice de tabelas	xiv
Índice de Figuras	xv
Índice de Gráficos	xvi
Lista de siglas	xvii
Capítulo 1 - Actividades de estágio	1
Capítulo 2 - Mastocitoma em canídeos: Estudo Retrospectivo.	6
1. Introdução	6
1.1. Mastócitos	6
1.1.1. Origem dos mastócitos	7
1.1.2. Receptores de superfície	8
1.1.3. Mediadores inflamatórios	10
1.1.4. Funções biológicas	11
1.1.5. Envolvimento dos mastócitos no crescimento tumoral	12
1.2. Transformação tumoral dos mastócitos	13
1.2.1. Mastocitoma, o “grande imitador”.	13
1.2.2. Patogenia	14
1.2.3. Epidemiologia	16
1.2.3.1. Raça	16
1.2.3.2. Sexo	17
1.2.3.3. Idade	17
1.2.4. Entidade Clínica	17
1.2.4.1. Localização	17
1.2.4.2. Síndromes paraneoplásicas	19
1.2.5. Possível associação entre a inflamação cutânea e o mastocitoma.	20
1.2.6. Diagnóstico	22
1.2.6.1. Estadiamento Clínico	23
1.2.6.2. Perfil hematológico, bioquímico e urianálise	24
1.2.6.3. Esfregaços da camada flogística.	24
1.2.6.4. Citologia de medula óssea	25

1.2.6.5.	Citologia de linfonodo _____	26
1.2.6.6.	Imagiologia _____	26
1.2.6.7.	Citologia da massa tumoral _____	27
1.2.6.8.	Graduação Histopatológica _____	28
1.2.6.9.	Infiltrado de eosinófilos _____	31
1.2.7.	Prognóstico _____	32
1.2.7.1.	Localização e aparência do tumor _____	32
1.2.7.2.	Taxa de crescimento e tamanho _____	33
1.2.7.3.	Raça _____	33
1.2.7.4.	Sexo e idade _____	33
1.2.7.5.	Estadiamento clínico _____	34
1.2.7.6.	Sinais clínicos _____	34
1.2.7.7.	Metastização _____	34
1.2.7.8.	Marcadores genéticos e imunohistoquímicos _____	35
1.2.7.8.1.	Ploidia do ADN _____	35
1.2.7.8.2.	Regiões organizadoras nucleolares argirófilas (AgNOR) _____	35
1.2.7.8.3.	Antígeno proliferativo celular nuclear (PCNA) _____	35
1.2.7.8.4.	Ki-67 _____	36
1.2.7.9.	Índice mitótico _____	36
1.2.7.10.	Grau histológico _____	36
1.2.7.11.	Presença de mutações no c-kit detectadas por marcação imunohistoquímica _____	38
1.3.	Tratamento _____	39
1.3.1.	Mastocitomas bem diferenciados e de grau intermédio _____	39
1.3.2.	Mastocitomas bem diferenciados e de grau intermédio com envolvimento dos linfonodos. _____	40
1.3.3.	Mastocitomas de Grau II e III _____	40
1.3.4.	Mastocitomas metastáticos ou recidivantes. _____	41
1.4.	Avanços da quimioterapia _____	41
1.4.1.	Protocolos mais usados: Prednisolona, Vimblastina, Clorambucilo, Ciclofosfamida e Lomustina. _____	42
1.4.2.	Inibidores da tirosina-cinase _____	44
1.4.2.1.	Fosfato de Toceranib _____	45
1.4.2.2.	Masitinib _____	45
1.4.2.3.	Mesilato de Imatinib _____	46
1.4.3.	Electroquimioterapia _____	47
1.4.4.	Radioterapia _____	49

1.4.5.	Terapêutica fotodinâmica	51
1.4.6.	Imunoterapia tumoral não específica – Modificadores da resposta biológica (BRM).	52
1.4.7.	Instilação de água desionizada	53
1.4.8.	O futuro: novas terapêuticas em estudo.	54
1.4.9.	Tratamento complementar	55
2.	Estudo Retrospectivo	57
2.1.	Objectivos	57
2.2.	Material e métodos	57
2.3.	Resultados	59
1ª Fase -	Frequência dos mastocitomas solitários e múltiplos.	59
2.3.1.	Distribuição da frequência dos tumores solitários.	59
2.3.1.2.	Idade	60
2.3.1.3.	Raça	61
2.3.1.4.	Localização	62
2.3.1.5.	Grau	63
2.3.1.6.	Tamanho	65
2.3.2.	Mastocitoma múltiplo.	68
2.3.2.1.	Sexo	68
2.3.2.2.	Idade	68
2.3.2.3.	Raça	69
2ª Fase -	Associação entre aspectos clínicos e epidemiológicos dos tumores	74
2.3.3.	Relação entre os aspectos clínicos e histológicos nos tumores solitários.	74
2.3.4.	Relação entre os aspectos clínicos e histológicos nos tumores múltiplos.	76
2.4.	Discussão	78
2.5.	Conclusão e perspectivas futuras.	86
Bibliografia		89
Anexo I		102

Índice de tabelas

Tabela 1 – Envolvimento dos mastócitos na angiogénese, remodelação tecidual e modelação imune actuando no desenvolvimento do micro-ambiente tumoral (adaptado de Maltby *et al.*, 2009)..... 13

Tabela 2 – Sistema de estadiamento clínico proposto pela Organização Mundial de Saúde para Mastocitomas (Owen, 1980, citado por Dobson & Scase, 2007). 23

Tabela 3 - Sistema de classificação proposto por London (2010)..... 24

Tabela 4 – Relação entre o Prognóstico e o sistema de graduação de Patnaik *et al*, (1984). 37

Tabela 5 – Principais tratamentos com quimioterapia..... 44

Tabela 6 – Tratamentos com Inibidores da Tirosina-Cinase..... 47

Tabela 7 – Efeitos secundários da radioterapia (adaptado de Cooper , 2008)..... 50

Tabela 8 - Número de mastocitomas solitários por Sexo..... 59

Tabela 9 – Idade dos canídeos com mastocitoma solitário consoante o sexo (N=260). 60

Tabela 10 – Distribuição dos mastocitomas solitários por intervalos de idade consoante o sexo dos animais..... 60

Tabela 11 - Distribuição dos mastocitomas solitários consoante a raça e os intervalos de idade. 61

Tabela 12 - Distribuição dos mastocitomas solitários consoante o sexo e a localização dos nódulos (N=271)..... 62

Tabela 13 – Distribuição dos mastocitomas solitários por grau e sexo. (N=271). 63

Tabela 14 – Distribuição da idade consoante o grau dos mastocitomas solitários..... 63

Tabela 15 – Distribuição dos nódulos consoante o grau e a localização anatómica. 64

Tabela 16 - Relação entre o grau e a localização dos mastocitomas da região inguinal/perineal (N=55). 64

Tabela 17 - Frequências absolutas e relativas da dimensão dos tumores da amostra (N=164). 65

Tabela 18 - Distribuição da raça em função da dimensão dos tumores (N=164). 65

Tabela 19 – Distribuição do tamanho pela localização dos nódulos (N=164). 66

Tabela 20 – Distribuição do Tamanho tumoral *versus* grau histológico dos mastocitomas solitários (N=164). 66

Tabela 21 - Graduação dos mastocitomas solitários por raça. 67

Tabela 22 – Distribuição da ocorrência de mastocitoma múltiplo por sexo. 68

Tabela 23 - Distribuição da média de idades e sexo dos animais..... 68

Tabela 24 - Frequência de nódulos múltiplos consoante a localização..... 69

Tabela 25 - Associação entre a idade e o grau histológico dos animais com mastocitoma múltiplo (N=28)..... 70

Tabela 26 - Distribuição do grau dos mastocitomas por sexo..... 71

Tabela 27 - Número de animais consoante a raça e a sua relação com o (s) grau (s) dos mastocitomas múltiplos (N=28).	71
Tabela 28 - Comparação entre o número de tumores e a localização nas raças mais afectadas.	72
Tabela 29 - Comparação do número de animais da mesma raça com mastocitomas solitários e múltiplos.	73
Tabela 30 - Frequência de nódulos solitários e múltiplos consoante a localização.	73
Tabela 31 – Distribuição dos aspectos clínicos <i>versus</i> grau histológico (N=98).	74
Tabela 32 - Associação entre tumores ulcerados, o seu tamanho e o grau histológico (N=21).	75
Tabela 33 - Distribuição do número de animais vivos e mortos consoante o grau (N=98).	76
Tabela 34 – Distribuição dos aspectos clínicos <i>versus</i> grau nos mastocitomas múltiplos.	76
Tabela 35 - Associação entre a sobrevivência e o grau dos mastocitomas.	77

Índice de Figuras

Figura 1 – Exemplo de cálculos urinários removidos por cistotomia, num cão de raça Shi-Tzu (original).	2
Figura 2 – Laqueação de vasos renais durante uma nefrotomia para remoção de cálculos renais em gato (original).	2
Figura 3 – Ovariohisterectomia e agenésia parcial unilateral de corno uterino (original).	3
Figura 4 – Resolução cirúrgica de entrópion em gato de raça Persa (original).	3
Figura 5 – Biopsia de osso mandibular em cão com suspeita de carcinoma espinocelular (original).	4
Figura 6 - Biópsia ecoguiada de massa pulmonar em gato (original).	4
Figura 7 - Imagem ecográfica de uma invaginação do intestino delgado (original).	5
Figura 8 – Paul Ehrlich, o descobridor dos mastócitos em 1878.	6
Figura 9 - Organização do c-kit (Adaptado de Voytyuk <i>et al.</i> , 2003).	9
Figura 10 – Corte histológico de mastocitomas cutâneos marcados com anticorpos anti-KIT e corados com hematoxilina (Adaptado de Webster <i>et al.</i> , 2006).	15
Figura 11 - Graduação dos mastocitomas de canídeos proposto por Patnaik et al., (1989).	29
Figura 12 - A remoção cirúrgica de um mastocitoma deve ser feita com margens laterais de 2 cm e deve incluir o músculo panicular adjacente (Adaptado de North & Banks, 2009).	39
Figura 13-Aplicação de electroquimioterapia em mastocitoma (original da autora, adaptado de Kodre <i>et al.</i> , 2009).	48
Figura 14 - Mecanismo de acção da terapêutica fotodinâmica sobre as células tumorais (Adaptado de North & Banks, 2009).	52

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição da casuística observada, por área de intervenção e espécie..... 2

Gráfico 2- Distribuição do número de casos acompanhados na cirurgia..... 5

Gráfico 3- Raças acometidas por mastocitomas solitários (N=271)..... 61

Gráfico 4 - Distribuição dos mastocitomas múltiplos por raça (N=28)..... 69

Gráfico 5 - Distribuição dos mastocitomas múltiplos por grau (N=28)..... 70

Lista de siglas

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AgNOR's – Regiões organizadoras nucleolares

APC – *Antigen presenter cells* (Células apresentadoras de antígenos).

ATRA - *all-trans retinoic acid* (ácido retinóico *all-trans*)

ANG -1 – Angiopietina 1

bFGF - *Basic fibroblast growth factor*

BMCMCs – *Bone Marrow Canine Mast Cells* (Mastócitos caninos derivados da medula óssea)

CCNU - *1-[2-chloroethyl]3-cyclohexyl-1-nitrosurea* (Lomustina)

CEBP α - *CCAAT/enhancer-binding protein alpha*

cm - centímetro

EAT – Eosinofilia associada ao tumor

EV – Via endovenosa

Fc ϵ RI – Receptor de alta afinidade para a porção FC da Imunoglobulina E (IgE).

FMV - Faculdade de Medicina Veterinária

g.l. – graus de liberdade

Ig - Imunoglobulina

IL- Interleucina

IFN- γ – Interferão gamma

Indt - Indeterminado

kg – Kilograma

LT - Leucotrienos

MC_C – Mast cell Chymase (quimase dos mastócitos)

MCM- Mastócitos das mucosas

MC_T – Mast cell Tryptase (triptase dos mastócitos)

MCTC- Mastócitos do tecido conjuntivo

MC_{TC} – Mast cell Tryptase- Chymase (triptase-quimase dos mastócitos)

MCP – *Monocyte Chemoattractant Protein* (proteína quimiotática dos monócitos)

mg/m² – Miligrama por metro quadrado

mg/kg – Miligrama por quilograma

MHC-II – Complexo Maior de Histocompatibilidade Classe II

MIP – *Macrophage Inflammatory protein* (proteína inflamatória dos macrófagos)

mMCP – *Mouse Mast Cell Proteinase*

mMC-CPA - *Mast cell carboxypeptidase A*

MMP-9 – Metaloproteinase da matriz

mTMT - *transmembrane tryptase*

NGF – *Nerve Growth Factor* (factor de crescimento nervoso)
 OMS - Organização Mundial de Saúde
 OVH - Ovariohistirectomia
 p - probabilidade
 PAAF – Punção Aspirativa por Agulha Fina
 PAMP – padrões de proteína associados a agentes patogéneos
 PAWS - Predictive Analytics Statistical SoftWare
 PBMC – *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (células mononucleares do sangue periférico)
 PC – Patologia Cutânea
 PCNA – Antígeno proliferativo nuclear das células
 PGD2 α – Prostaglandina 2 α
 PDGFR β - Receptor beta para o factor de crescimento derivado das plaquetas
 PO – via *per os*
 q48h - Cada 48 horas
 RANTES – *regulated upon activation T cell expressed and secreted* (quimiocina
 Regulada, expressa e segregada sob activação de linfócitos T)
 SC – via subcutânea
 SCF – Stem cell Factor
 SRD – Sem raça definida
 SID – Uma vez por dia
 χ^2 -Teste bilateral de qui-quadrado de Pearson
 TAC – Tomografia Axial Computorizada
 TNF- α – *Tumor Necrosis factor* (Factor de necrose tumoral alfa)
 Th – Linfócito *T helper*
 UI – Unidade Internacional
 U/m2 – Unidades por metro quadrado
 U – Unidade
 VEGF – *Vascular Endothelial Growth factor* (factor de crescimento do endotélio vascular)
 VEGFR2 – Receptor 2 para o factor de crescimento do endotélio vascular
 VIP- péptido intestinal vasoactivo

Capítulo 1 - Actividades de estágio

O estágio curricular foi desenvolvido no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) da Universidade Técnica de Lisboa (UTL), sob a orientação da Professora Doutora Maria Teresa Villa de Brito, e com acompanhamento da Dra. Maria Alexandra Basso. Teve início no dia 28 de Setembro de 2009 e terminou 6 meses depois, no dia 30 de Março de 2010, com uma carga horária total de 1144 horas.

A escolha da área de animais de companhia e do hospital em particular, prende-se com a diversidade e qualidade de casos que surgem todos os dias, abrangendo as áreas médicas e cirúrgica.

Durante a prática hospitalar, a aluna teve a oportunidade de trabalhar em diversos serviços nomeadamente Medicina Interna, (584 horas), Cirurgia (120 horas), Imagiologia (80 horas) e Internamentos (360 horas).

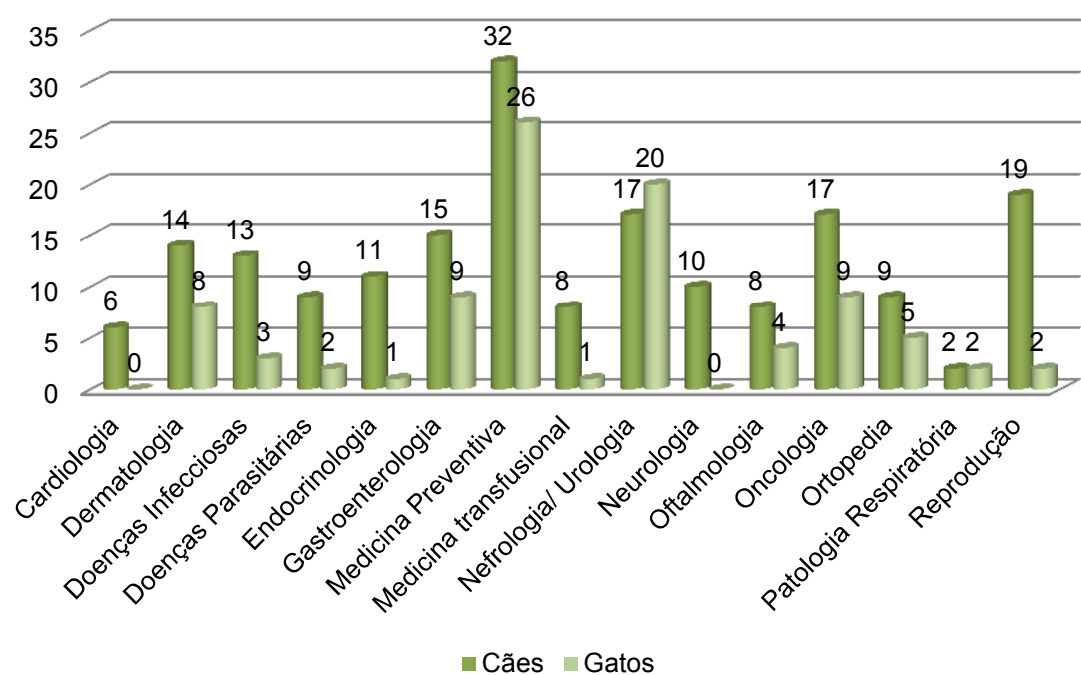
No serviço da Medicina Interna pôde assistir e participar activamente nas consultas externas efectuadas. Em todos os animais apresentados à consulta, a aluna recolheu a história pregressa e realizou um exame de estado geral e, em casos específicos, procedeu ao exame de especialidade necessário, sob orientação do Médico Veterinário responsável pela consulta. Gradualmente criou uma maior facilidade de manipular os animais, quer na sua abordagem e contenção, assim como uma maior facilidade de comunicação com os proprietários. Em conjunto com o(s) Médico(s) Veterinário(s) assistente(s), discutiu diagnósticos diferenciais, planos de diagnóstico e tratamentos a serem instituídos.

Participou num *workshop* de Dermatologia leccionado pela Dra Mafalda Lourenço e num *workshop* de Cirurgia leccionado pela Dra Ana Murta. Participou em apresentações quinzenais de temas subordinados a determinadas áreas de clínica, apresentados por estagiários do hospital, sendo a sua apresentação subordinada ao tema "Exame Dermatológico" e apresentou uma comunicação livre com o tema "Mastocitoma canino: estudo retrospectivo" no VII Congresso Do Hospital Veterinário Montenegro, 2011,

Acompanhou consultas em várias áreas de especialidade como se pode observar no Gráfico 1.

A Medicina Preventiva representou a especialidade médica com maior número de casos acompanhados, nomeadamente no que diz respeito a vacinações, desparasitação interna e externa, identificação electrónica e emissão de passaportes. Esta área é de importância primordial, não só pela promoção do bem-estar e saúde dos animais, mas também para aconselhamento sobre questões de saúde pública.

Gráfico 1 - Distribuição da casuística observada, por área de intervenção e espécie.



A especialidade de Nefrologia/Urologia ocupa o segundo lugar na lista de maior número de consultas acompanhadas pela aluna. Dentro desta especialidade merece destaque a insuficiência renal crônica e a cistite idiopática, pela sua frequência, embora também tenham sido observados casos de urolitíase, insuficiência renal aguda devida a “auto-medicação” por AINE’s (anti-inflamatórios não esteróides) e algumas urgências como rupturas de bexiga.

Figura 1 – Exemplo de cálculos urinários removidos por cistotomia, num cão de raça Shi-Tzu (original).

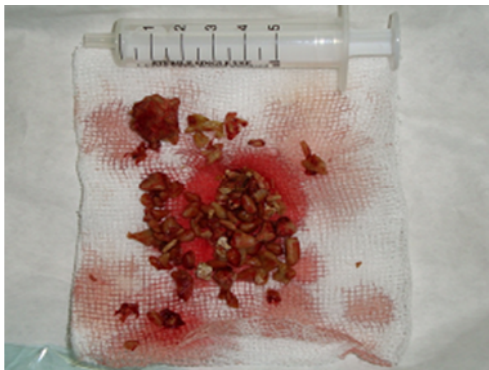
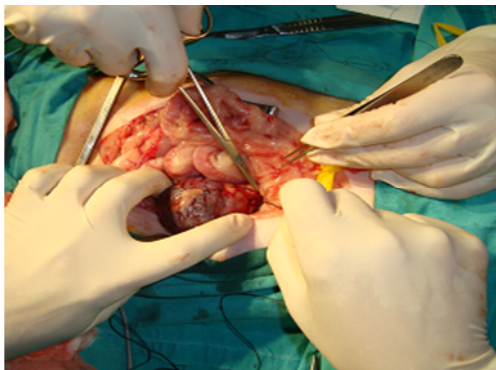


Figura 2 – Laqueação de vasos renais durante uma nefrotomia para remoção de cálculos renais em gato (original).

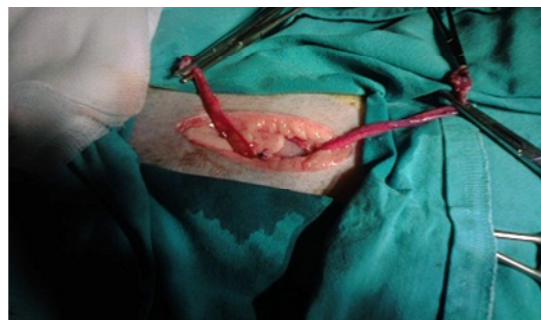


A ortopedia foi uma das especialidades que registou uma casuística relativamente considerável, onde os casos de displasia da anca foram os mais frequentes, assim como

artrites, rupturas do ligamento cruzado cranial, tendo ocorrido também alguns casos de ortotrauma por atropelamento e quedas.

Na especialidade de Reprodução, observaram-se alguns casos de hiperplasia benigna da próstata, vaginites, metrites, priapismo, planeamentos de ovariectomia e orquiectomia e urgências reprodutivas como cesarianas e piômetras. Destaca-se o caso particular de uma gata nulípara com agenésia parcial unilateral do corno uterino esquerdo, o qual foi um dado accidental durante a realização de OVH (Ovariectomia).

Figura 3 – Ovariectomia e agenésia parcial unilateral de corno uterino (original).



Na área da Endocrinologia acompanhou casos de hipotireoidismo, de hipoadrenocorticism, hiperadrenocorticism e de *Diabetes mellitus*, alguns complicados por ceto-acidose metabólica. Infelizmente não acompanhou nenhum caso de hipertireoidismo.

Figura 4 – Resolução cirúrgica de entrópion em gato de raça Persa (original).



Na Oftalmologia destacaram-se as uveítes como a afecção mais frequente, quer em cães quer em gatos, sendo a sua maioria secundária a doenças sistêmicas que atingiram os animais numa fase anterior. Também se acompanharam casos de cataratas, de entrópion, de ectrópion, de tumores oculares e palpebrais, de prolapsos da glândula da membrana nictitante e de glaucoma.

A Oncologia foi a especialidade que revelou maior heterogeneidade, observando-se casos de neoplasia em diversos sistemas e aparelhos, como os linfomas (a neoplasia mais frequente) quer em cães quer em gatos, os mastocitomas, os osteossarcomas, os fibrossarcomas, os carcinomas mamários, dos quais se destaca um carcinoma mamário inflamatório, os hemangiossarcomas, tumores hepáticos, o carcinoma espinho-celular, as epúlides fibromatosas, o adenoma das glândulas hepatóides, os pólipos vaginais, o carcinoma das células de transição da bexiga e os adenocarcinomas prostáticos.

Figura 5 – Biopsia de osso mandibular em cão com suspeita de carcinoma espinocelular (original).



Figura 6 - Biópsia ecoguiada de massa pulmonar em gato (original).



Na área da Gastroenterologia e glândulas anexas, acompanhou casos de gastroenterite aguda, de diarreia crônica, de vômito crônico, de doença inflamatória intestinal crônica, de pancreatites aguda e crônica, de cirrose hepática, de lipidose hepática, de colecistite aguda, de cálculos biliares, de ulceração gastrointestinal, de megacólon, de fecaloma, de hemoperitôneu, de ascite e várias urgências como obstrução por corpos estranhos, invaginação intestinal, gastroenterite aguda por parvovírus e torção gástrica.

No que se refere às Doenças Infecciosas e Parasitárias, foram observados casos de leptospirose, leishmaniose, babesiose, erliquiose, parvovirose, esgana, gastroenterite por diversos parasitas gastrointestinais e vários casos de patologia cutânea e otites parasitárias por ácaros.

Na Neurologia, grande parte dos casos clínicos observados foi constituída por casos de hérnias discais cervicais e hérnias toraco-lombares, de bexiga neurogênica, de epilepsia, de síndrome vestibular periférico e também algumas urgências como traumatismos medulares, luxação atlanto-occipital e crises convulsivas epileptiformes.

A aluna acompanhou e participou na realização de várias cirurgias, não só como ajudante de cirurgião, mas também como circulante, ajudando na preparação do paciente para a cirurgia e monitorizando o paciente durante o decorrer da cirurgia. Acompanhou a realização de pensos e consultas de seguimento pós-cirúrgico.

Destacam-se algumas urgências cirúrgicas como piômetra em gata com ruptura de útero, rupturas de bexiga em canídeos e nos felinos, ruptura de baço secundária a traumatismo e hemangiossarcoma, torção gástrica, toracotomia e lobectomia de massa pulmonar.

Durante os turnos de internamento (12 ou 24h) pôde acompanhar casos de todas as áreas da Medicina de animais de companhia.

Gráfico 2- Distribuição do número de casos acompanhados na cirurgia.

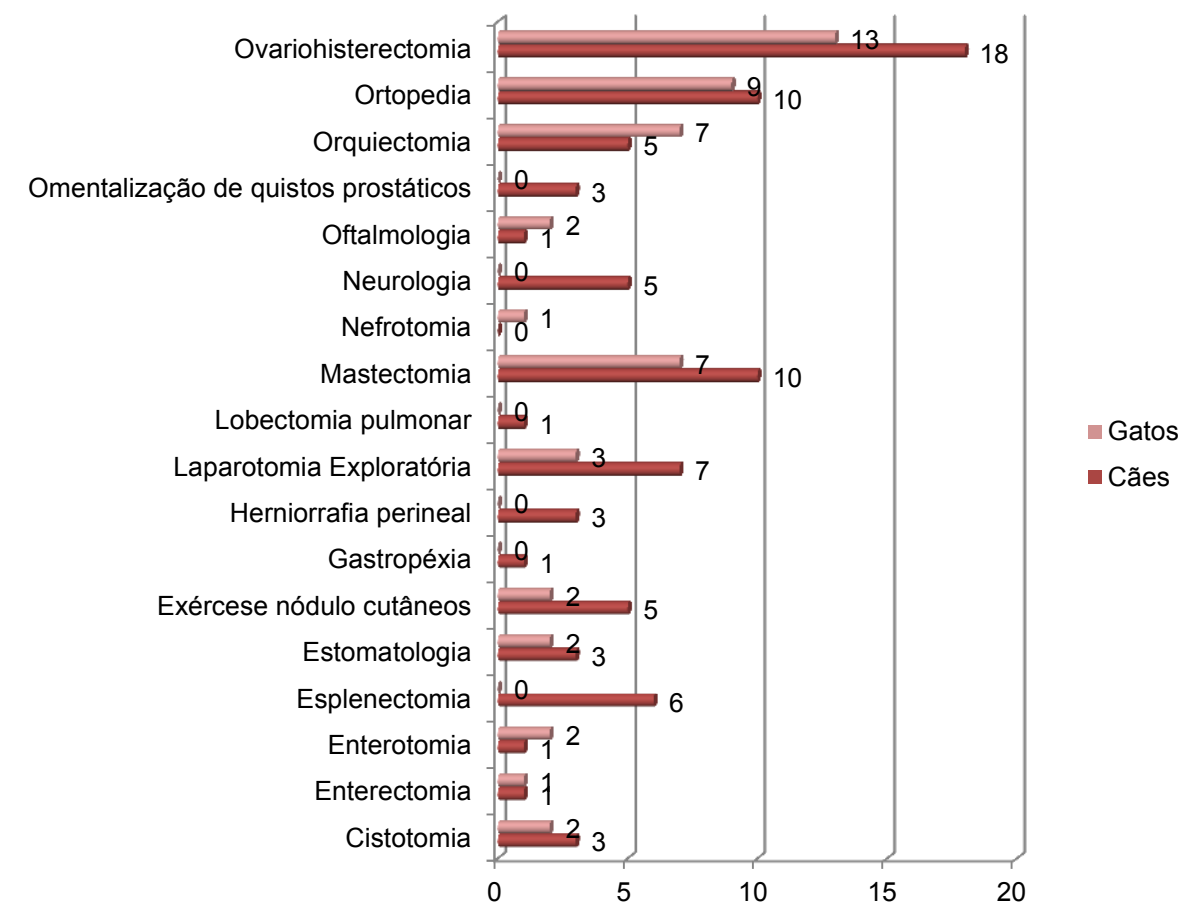


Figura 7 - Imagem ecográfica de uma invaginação do intestino delgado (original).



Na área da Imagiologia assistiu à realização de várias ecografias, tomografias axiais computadorizadas (TAC) e radiografias. Em cada área ajudou na contenção dos animais, aprendeu a realizar e interpretar ecografias, Radiografias e TACs e monitorizou os animais sujeitos a anestesia.

A possibilidade de percorrer várias áreas e ter acesso a diversas especialidades contribuiu não só para o enriquecimento profissional e pessoal da aluna mas também para a definição das áreas de maior afinidade e interesse às quais pretende dedicar-se no futuro.

Capítulo 2 - Mastocitoma em canídeos: Estudo Retrospectivo.

1. Introdução

1.1. Mastócitos

Os mastócitos foram descobertos em 1877 por Paul Ehrlich e por ele designados como

“Mastzellen”. Ehrlich considerou-os como células que proviam nutrição aos tecidos, pela sua composição em grânulos citoplasmáticos, que coravam metacromaticamente e, por isso deviam ser identificados com base nesta reacção e não exclusivamente na sua aparência morfológica (Beaven, 2009) (Strefezzi, Kleeb, Xavier, & Dias, 2010). A presença de mastócitos em cães foi descrita pela primeira vez em 1905 por Bashford e o termo “mastocitoma” foi descrito pela primeira vez por Bloom em 1952 (Strefezzi, Kleeb, Xavier, & Catão-Dias, 2009).

Anos mais tarde, Riley & West (1953) estudaram a presença de histamina e heparina nos mastócitos de vários tecidos, em diferentes espécies animais e demonstraram que os mastocitomas caninos apresentavam a maior quantidade de histamina até então descrita nos tecidos e, além de intimamente ligados à presença de heparina, estavam também ligados à presença de histamina e às reacções alérgicas (Riley & West, 1953).

Os mastócitos localizam-se no tecido conjuntivo, sob a superfície das mucosas, na pele e ao redor dos nervos, especialmente em locais mais expostos a microrganismos invasores como intestinos e vias respiratórias, onde se dispõem dentro dos vasos sanguíneos, de forma a regular o fluxo sanguíneo e a migração celular quando o organismo é invadido por proteínas estranhas (Tizzard, 2009)

Os mastócitos presentes na derme localizam-se na proximidade de vasos sanguíneos, nervos e vasos linfáticos, com uma densidade estimada de 7000 a 20000 mastócitos/m³ (Cowen, 1979). São também encontrados no plexo coróide do cérebro, na camada vascular das meninges e em baixo número nos rins e medula óssea (Gurish & Castells, 2010). Estão presentes em quantidade proporcional ao tecido conjuntivo, pelo que órgãos como testículos, ovários, glândulas salivares, tonsilas, coração, pâncreas, linfonodos e baço apresentam um elevado número de mastócitos (Orkin & Schwartzman, 1959).

Possuem núcleo pequeno, esférico e central de difícil observação devido à riqueza em grânulos metacromáticos no citoplasma. A metacromasia deve-se à elevada concentração

Figura 8 – Paul Ehrlich, o descobridor dos mastócitos em 1878.



em radicais ácidos presentes dos glicosaminoglicanos presentes nestes grânulos - heparina e sulfato de condroitina (Junqueira & Carneiro, 2004).

Foram descritos dois tipos de mastócitos em humanos: os mastócitos do tecido conjuntivo (MCTC) e os mastócitos das mucosas (MCM) (Theoharides & Conti, 2004).

Em cães, os mastócitos são subdivididos consoante o seu conteúdo enzimático de quimase (MC_C), de triptase (MC_T) e de quimase-triptase (MC_{TC}). A mucosa intestinal é o maior compartimento ocupado por mastócitos. No intestino são um dos tipos celulares mais frequentes. Os mastócitos do tracto gastrointestinal mais frequentes são, por ordem decrescente, os MC_T , os MT_C e os MC_{TC} . (Kleinschmidt, Meneses, Nolte, & Hewicker-Trautwein, 2008).

1.1.1. Origem dos mastócitos

Os precursores dos mastócitos têm origem em células estaminais pluripotenciais CD34+ presentes na medula óssea e baço (Kitamura, Go, & Hatanaka, 1978). Quando imaturos, os mastócitos deixam a medula óssea para completar o seu desenvolvimento e proliferação, periféricamente, isto é, no tecido conjuntivo e nas superfícies mucosas, onde adquirem o seu fenótipo de células maduras sob a influência de dois mecanismos: um dependente do factor de crescimento derivado dos fibroblastos, o *stem cell factor* (SCF) e outro de interleucinas (IL) produzidas por linfócitos T: IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10 (Hill & Martin, 1998) (Lin & London, 2006) e factor de crescimento nervoso (NGF) (Theoharides & Cochrane, 2004) e provavelmente de outros factores (Arinobu, *et al.*, 2005; Yu, Tsai, Tam, Jones, Zehnder, & Galli, 2006).

O SCF é também chamado ligando do kit ou *Steel factor*. O receptor para o SCF, o c-kit, KIT ou CD117 é expresso por células estaminais hematopoiéticas e é mantido durante a diferenciação mielóide. O SCF é também um marcador precoce dos precursores dos mastócitos e é expresso durante todo o seu desenvolvimento (Arinobu *et al.*, 2005; Gurish & Castells, 2010). O SCF é um factor de crescimento fundamental, sintetizado na pele pelos fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais (Longley, 1993) e além de participar no desenvolvimento destas células, impede a apoptose dos mastócitos maduros (Galli, Tsai, Wershil, Tam, & Costa, 1995), induz a hiperplasia dos mastócitos e promove a produção de mediadores. Também a IL-3 é importante na proliferação precoce dos mastócitos.

O SCF é capaz de estimular e regular a desgranulação dos mastócitos pela via do $Fc\epsilon RI$, um receptor de alta afinidade existente na superfície destas células. Alguns estudos em mastócitos presentes na pele de humanos mostraram que o SCF é capaz de despoletar a libertação de mediadores pré-formados existente nos mastócitos e de estimular a síntese *de novo* de outros (Brazís, Queralt, de Mora, Ferrer, & Puigdemont, 2000).

Os factores de transcrição GATA-1, GATA-2, PU1 e factor de transcrição associado à microftalmia (Mift) desempenham, também, papéis essenciais no desenvolvimento dos mastócitos. Este é inibido pelo factor CEBP α , necessário para o desenvolvimento dos granulócitos. A expressão forçada deste mediador nos precursores dos basófilos ou dos mastócitos leva ao desenvolvimento de basófilos suprimindo os mastócitos (Takemoto *et al.*, 2008).

1.1.2. Receptores de superfície

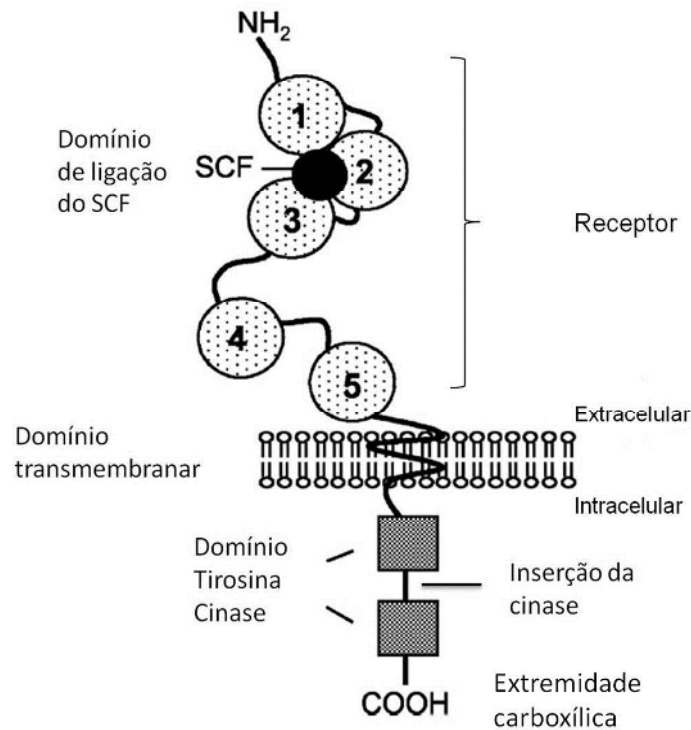
Na superfície celular dos mastócitos estão presentes receptores de estimulação como o receptor de alta afinidade para IgE (Fc ϵ RI), IgG, receptores Toll-like 1-9 (TLR), proteínas do complemento, neuropéptidos e opióides e c-kit. (Gurish & Castells, 2010).

O c-kit, CD117 ou KIT é o produto proteico do proto-oncogene *c-kit*, codificado para o receptor transmembranário KIT, que é um receptor tirosina-cinase tipo III (Majumder, Brown, Qiu, & Besmer, 1988; Nocka *et al.*, 1989) que se une ao ligando *Stem Cell Factor* (SCF). O proto-oncogene *c-kit* foi inicialmente identificado como o componente oncogénico do sarcoma felino por vírus Hardy-Zuckerman 4 (Besmer *et al.*, 1986). O gene que codifica o c-kit em humanos está localizado no cromossoma 4, entre 4q11 e 4q21 (Yarden *et al.*, 1987) e no cromossoma 5 dos ratinhos (D'Auriol *et al.*, 1988). No cão o c-kit está localizado no cromossoma 13q22-23 e no cromossoma 2p12 da raposa vermelha (Graphodatsky, et al., 2005).

O receptor c-kit é constituído por: um domínio extracelular, codificado pelos exões 1-9 do KIT, um segmento transmembranar (exão 10), um domínio intracelular, que se divide num domínio justamembranar (exões 11-12) e num domínio citoplasmático tirosina-cinase que é separado por uma inserção de ligação ATP (exão 13) e um lobo fosfotransferase (exão 17), como se pode observar na Figura 9 (Takeuchi *et al.*, 2010). A ligação do SCF ao c-kit promove homodimerização e autofosforilação do receptor (Roskoski, 2005).

A sinalização mediada pelo receptor c-kit é importante para a eritropoiese, linfopoiese, megacariocitopoiese, gametogénese, melanogénese, desenvolvimento, maturação e indução/modulação da secreção mediada pelos mastócitos (Galli & Kitamura, 1987; Galli, Tsai, & Wershil, 1993; Roskoski, 2005 b).

Figura 9 - Organização do c-kit (Adaptado de Voytyuk et al., 2003).



A ligação do c-kit com o SCF promove o desenvolvimento dos mastócitos a partir dos seus progenitores hematopoiéticos e pode regular a secreção destes, provavelmente pela modificação dos sinais intracelulares mediados pelo FcεRI (Ashman, 1999).

O receptor c-kit é expresso por um número limitado de células no cão e no gato, com uma distribuição comparável à dos mastócitos nos tecidos humanos. Surge nas células intersticiais de Cajal, nas células de Purkinje, no endométrio e nas células epiteliais (ductos e ácinos) da glândula mamária. Nos tecidos humanos, as células epiteliais basais, as células germinais dos testículos, os oócitos e as células da medula adrenal com marcação do c-kit coram de forma moderada a forte. Contudo, nos tecidos dos animais domésticos, estes compartimentos não reagiram na análise imunohistoquímica com CD117, ao contrário dos mastócitos neoplásicos que coram de forma constante e intensa (Morini, Bettini, Preziosi, & Mandrioli, 2004).

Os Mastócitos e Basófilos exprimem o receptor para IgE, de alta afinidade e um receptor FcεRII de baixa afinidade, sendo este também detectado em eosinófilos, monócitos, linfócitos e plaquetas. O FcεRI é um complexo multimérico composto por 4 cadeias, designadamente uma α, que se liga às IgE, uma cadeia β e duas γ. Os antígenos ligam-se à IgE, que por sua vez se liga pela fracção Fc à cadeia α do FcεRI, conduzindo à agregação e internalização do receptor culminando com a sinalização intracelular. A activação dos

receptores de IgE de alta afinidade (FcεRI) despoleta a libertação de mediadores pré-formados altamente específicos e a síntese de quimiocinas e citocinas (Galli *et al.*, 1993). Os mastócitos possuem também à superfície dois tipos de receptores para catecolaminas que regulam a sua actividade (adrenoreceptores α e β), mas que têm efeitos opostos. As moléculas como norepinefrina e a fenilefrina, que estimulam os receptores α, e o propanolol, que bloqueia os receptores β, induzem a desgranulação dos mastócitos. Por seu turno, moléculas como o isoproterenol, epinefrina ou o salbutamol (β-agonistas) inibem a desgranulação dos mastócitos e são amplamente utilizadas no tratamento de alergias (Tizzard, 2009).

1.1.3. Mediadores inflamatórios

Os mediadores inflamatórios libertados pelos mastócitos activados podem ser divididos em 3 classes: 1) aminas bioactivas associadas a grânulos pré-formados (histamina e serotonina), proteases (Tryptase, β-hexosaminidase, β-glucuronidase, β-D-galactosidase, Catepsina G e carboxipeptidase), e Factor básico de crescimento de fibroblastos (bFGF), 2) metabolitos do ácido araquidónico neo-sintetizados (leucotrienos B4 e C4 – LTB4 e LTC4), prostaglandina D2 (PGD2) e factor activador plaquetário (PAF) e 3) inúmeras citocinas reguladoras como o factor de necrose tumoral α (TNF-α), Interleucinas (IL) -1, -3, -4, -5, -6, -8, -9, -10, -11, -12, -13, -15, -16, -18, -19, -25 e quimiocinas como proteína quimiotática dos monócitos 1 (MCP-1), IL-8, proteína inflamatória dos macrófagos 1 α e 1 β (MIP-1 α e MIP-1 β) (Galli, Kalesnikoff, Grimbaldston, & Philipponsky, 2005; Beaven, 2009), factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e factor de crescimento nervoso (NGF). Está também descrita a produção autócrina de SCF (De Paulis *et al.*, 1999). A expressão heterogénea de proteases pelos mastócitos está bem exemplificada nos ratinhos: as principais proteases produzidas são as quimases (mMCP-1, -2, -4, -5, e -9), triptases (mMCP-6, -7, -11, e mTMT, triptase transmembranária), e carboxipeptidase (mMC-CPA). As proteases estão associadas a variadas acções biológicas, como broncoconstrição, degradação do fibrinogénio, de proteínas da matriz extracelular, péptidos endógenos e exógenos, hidrólise de quimiocinas e de citocinas e inactivação de alérgenos e ainda neuropéptidos (Metcalf, 2008). Tal como outros tipos de células, os mastócitos também produzem lípidos inflamatórios, os eicosanóides, a partir do ácido araquidónico produzido pelos fosfolípidos membranares, após activação pela fosfolipase A.

1.1.4. Funções biológicas

Os mastócitos participam num importante conjunto de reacções imunitárias inatas e adquiridas, como por exemplo, reacções de hipersensibilidade do tipo I, do tipo III ou auto-imunes e do tipo IV, tais como dermatite, pênfigo bulhoso, fibrose pulmonar, neurofibromatose, psoríase, dermoesclerose, artrite reumatóide, cistite intersticial, colite ulcerativa, doença de Crohn e neoplasias (Besnoit & Mathis, 2002; Theoharides & Cochrane, 2004). Contudo, estas células são mais conhecidas como as células efectoras das reacções mediadas pelas IgE, como a rinite alérgica, asma ou a dermatite atópica (Galli *et al.*, 2005; Tsai, Grimbaldston, Yu, Tam, & Galli, 2005).

Os mastócitos são também chamados de células-sentinela uma vez que fazem parte de um grupo de células que actuam no imediato da reacção inflamatória, pois possuem receptores de superfície que reconhecem os PAMP (padrões moleculares associados a agentes patogéneos) e as alarminas (moléculas libertadas por células lesadas como, por exemplo, sulfato de heparina). A ligação destes aos receptores dos mastócitos provoca a desgranulação dos mesmos.

Os mastócitos actuam em reacções de hipersensibilidade, caracterizadas por vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, broncoconstrição, secreção de muco e estimulação nervosa, modulam respostas imunitárias, estimulando linfócitos T e actuam na defesa do organismo contra parasitas.

Mais recentemente foram reconhecidos como leucócitos dos tecidos, com funções importantes na defesa do hospedeiro, na inflamação, na remodelação tecidual, na fibrose e na coagulação. (Tizzard, 2009; Weiss & Wardrop, 2010)

Além de agirem como células de primeira linha em resposta à invasão microbiana, os mastócitos actuam também coordenando o recrutamento de células imunitárias presentes nos linfonodos, para iniciar a resposta imune adaptativa (Malaviya & Abraham, 2000; Beaven, 2009). Quando activados, os mastócitos provocam a migração de linfócitos periféricos, células de Langerhans e de células dendríticas para os linfonodos regionais, facilitando assim a interacção das células apresentadoras de antigénios (APC) com linfócitos Th (T helper), como precedentes da colaboração entre linfócitos T e linfócitos B ou a activação de linfócitos T citotóxicos (Beaven, 2009) - são importantes na eliminação de bactérias e no sequestro de linfócitos durante a drenagem dos linfonodos após uma infecção bacteriana pois libertam mediadores pro-inflamatórios, incluindo factor de necrose tumoral α (TNF- α), leucotrienos e triptase (Malaviya & Abraham, 2000; McLachlan, Hart, Pizzo, Staa, Gunn, & Abraham, 2003; Runa, Cavender, & Malaviya, 2007).

Pela sua localização próxima de vasos sanguíneos e de vasos linfáticos, por se acumularem ao redor de hemangiomas, pólipos, tumores e outros tecidos associados a angiogénese e pela produção de FGF-2, VEGF, IL-8, TGF- β , TNF- α , histamina, heparina e triptase (todos

com potencial angiogénico), os mastócitos estão também associados à angiogénese em várias situações, como por exemplo, no carcinoma de células basais em humanos (pela produção de VEGF e IL-8) e na gravidez do ratinho (Beaven, 2009).

Existem várias vias de activação dos mastócitos. Com efeito, podem ser activados por estímulos veiculados por opiáceos, pelos componentes da cascata do complemento, por neuropeptídeos (VIP- péptido intestinal vasoactivo, calcitonina, e substância P), pelo anião superóxido, por meios de contraste, por lipoproteínas oxidativas de baixa densidade, por factores de libertação da histamina, por quimiocinas como MCP -1, -2 e -3 e pelo MIP-1 α , quimiocina regulada pela activação, expressão e secreção de linfócitos T (RANTES), péptido activador do tecido conjuntivo, bactérias patogénicas, parasitas, enterotoxina B, toxina da cólera, mudanças de osmolaridade, IL-1 e catecolaminas (Krishnaswamy & Chi, 2005).

1.1.5. Envolvimento dos mastócitos no crescimento tumoral

Os mastócitos foram identificados como formas celulares de infiltração precoce e persistente em alguns tipos de tumores, e instalam-se frequentemente antes da angiogénese e da maior expressão do crescimento tumoral. Foi demonstrada a sua presença dentro e ao redor de pólipos adenomatosos, precursores do cancro do cólon, em displasias cutâneas antecessoras de tumores e em volta de alguns tumores em desenvolvimento, como o melanoma maligno, carcinoma mamário e carcinoma colo-rectal, em carcinomas das células basais, neurofibromatose e linfomas do tipo Hodgkin (nos quais está relacionado com pior prognóstico) (Theoharides & Conti, 2004; Beaven, 2009; Maltby, Khazaie, & McNagny, 2009).

Os efeitos dos mastócitos no crescimento tumoral podem ser caracterizados como efeitos directos, tal como a citotoxicidade mediada por mastócitos e como efeitos indirectos, tais como angiogénese dirigida por mastócitos, remodelação do ambiente tecidual circundante e recrutamento de células imunitárias (Maltby *et al.*, 2009).

Os mediadores do crescimento tumoral são o IL-8, o VEGF e a heparina os quais induzem a neovascularização, a histamina que age como imunossupressor, e os factores mitogénicos como PDGF, NGF, SCF e proteases que despolimerizam a matriz envolvente e facilitam a metastização. Os mediadores dos mastócitos que promovem a angiogénese e o desenvolvimento tumoral estão resumidos na Tabela 1.

Os mastócitos produzem também mediadores que atacam o tumor: citocinas como a IL-1, a IL-4, a IL-6 e o TNF- α que induzem a apoptose das células neoplásicas e a triptase que estimula os receptores protease activados (PAR-1 e -2), também activados pela trombina e tripsina, respectivamente, e induzem a dispersão da inflamação. As células tumorais expressam glicosaminoglicanos sulfatados, sulfato de condroitina e heparina, que se acumulam nos tumores das glândulas mamárias e nas lesões metastáticas, por exemplo.

O sulfato de condroitina produzido pelos mastócitos pode inibir a metastização das células tumorais actuando como atractivo para os factores de crescimento de algumas células inflamatórias (Theoharides, Patra, Boucher, & Athanasiou, 2000; Theoharides & Conti, 2004).

Tabela 1 – Envolvimento dos mastócitos na angiogénese, remodelação tecidual e modelação imune actuando no desenvolvimento do micro-ambiente tumoral (adaptado de Maltby *et al.*, 2009).

Função	Factor
Pró- angiogénico	VEFG, bFGF, ANG-1, Heparina, Histamina, TNF- α .
Remodelação tecidual	mMCP-4, mMCP-6, MMP9.
Imuno-modulação	IL-5, mMCP-6, IL-6, TNF- α , MHC II, moléculas co-estimulantes, OX40L

1.2. Transformação tumoral dos mastócitos

1.2.1. Mastocitoma, o “grande imitador”.

Os mastócitos são células residentes dos tecidos, mas são ocasionalmente encontrados também na medula óssea e nos linfonodos (Bookbinder, Butt, & Harvey, 1992).

Em 1958, Nielsen e Cole enfatizaram a frequência destas células ao redor de pequenos vasos sanguíneos na pele e no fígado caninos. Os mastócitos estão presentes em maior quantidade, em locais onde a exposição aos estímulos ambientais é maior como pele, pulmões e tubo gastrointestinal.

A mastocitose ou mastocitémia traduz-se por uma proliferação anormal de mastócitos local ou sistémica, de origem desconhecida (Davis, Page, Sannes, & Meutes, 1992). A tendência para aparecerem em aglomerados densos está associada a situações patológicas, que podem representar um estado reactivo ou neoplásico.

Durante algum tempo, associou-se a presença de mastócitos em circulação à presença de mastocitomas, mas esta situação ocorre também noutras neoplasias, em animais com doenças inflamatórias, na anemia regenerativa, no traumatismo tecidual, em situações de necrose e na inflamação cutânea (Stockham, Basel, & Schmidt, 1986).

Em humanos existe uma mastocitose sistémica, que se caracteriza por hiperplasia dos mastócitos na medula óssea, fígado, baço, linfonodos, tracto gastrointestinal e pele. O rápido aumento do número de mastócitos nos principais órgãos internos traduz o carácter agressivo desta situação (Metcalf, 1991). A mastocitose sistémica é classificada como mastocitoma visceral e é normalmente resultado da disseminação sistémica de um tumor

cutâneo primário, de carácter agressivo, mas pode ocorrer como uma síndrome independente (Pollack, Flanders, & Johnson, 1991; Takahashi *et al.*, 2000). Tumores primários com origem visceral são raros em cães, mas comuns nos gatos. Nos gatos, os mastocitomas viscerais representam até 50% dos casos de mastocitoma e dividem-se em mastocitomas do tipo esplênico e do tipo intestinal (Thamm & Vail, 2007).

A mastocitose cutânea tem sido relatada em poldros, em galinhas, em gatos e em crianças (*urticária pigmentosa*). Em 1992 Davis e sua equipa descreveram o caso de um cão da raça Jack Russel Terrier com apenas 3 semanas de idade com múltiplas lesões cutâneas, que regrediram por completo em 27 semanas e que classificaram como mastocitose cutânea, por se tratar de uma síndrome de células hiperplásicas ou displásicas mas não neoplásicas (Davis, Page, Sannes, & Meutes, 1992).

1.2.2. Patogenia

Apesar de todas as pesquisas já realizadas, a etiologia do mastocitoma ainda não está completamente esclarecida. A predisposição genética, as alterações moleculares e as mutações genéticas têm sido apontadas como as causas mais prováveis de induzir a génese deste tipo de neoplasia. Estudos recentes demonstram alterações na p53 e na sobreexpressão do *c-kit* (Turin *et al.*, 2006; Webster, Yuzbasiyan, Miller, Kaneene, & Kiupel, 2007; Takeuchi *et al.*, 2010). Também a expressão do KIT tem sido demonstrada por imunohistoquímica em mastócitos normais e neoplásicos, com elevada expressão em mastocitomas caninos e felinos de carácter indiferenciado, e por isso considerada como um bom indicador de prognóstico pela estreita relação com o grau histológico, os marcadores da proliferação celular aumentada (Ki67 e AgNOR), com a ulceração epidérmica e a necrose tumoral (Morini *et al.*, 2004; Gil da Costa, Matos, Rema, Lopes, Pires, & Gärtner, 2007; Welle, Bley, Rüfenacht, & Howard, 2008).

Em 1995, Nagata e seus colaboradores identificaram uma mutação pontual no domínio catalítico do *c-kit*, que consistia na substituição da valina por aspartato, no sangue periférico de 4 pacientes humanos com mastocitose e alterações predominantemente mielodisplásicas, dando um passo importante para o estudo da origem do mastocitoma. Esta mutação foi identificada em 3 linhas celulares de mastocitomas: HMC-1 nos humanos, RBL nos ratos, P815 nos ratinhos o que indica que uma disfunção no KIT que pode provocar crescimento ou tempo de sobrevivência anormais nos mastócitos. Seguindo o trilho desta descoberta, outras mutações foram identificadas em pacientes humanos com mastocitose sistémica agressiva (Dank, Chien, & London, 2002).

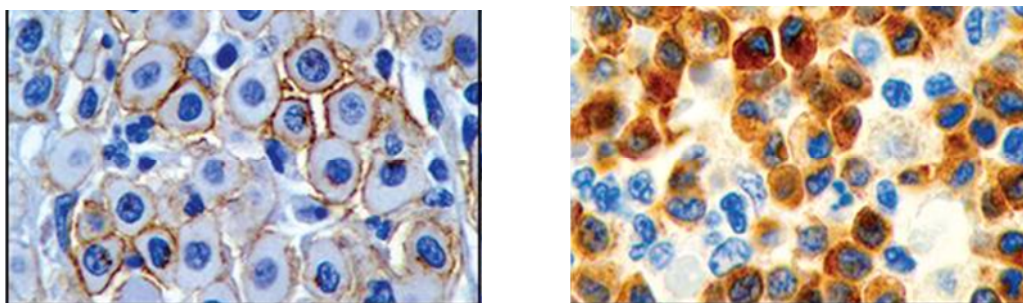
No final da última década, os estudos de London *et al.*, (1999) e Ma *et al.*, (1999) revelaram uma mutação que consiste numa duplicação interna em tandem nos exões 11 e 12 do

domínio justamembranar do c-kit em canídeos. Esta região controla o c-kit por *feedback* negativo, inibindo o receptor da dimerização.

As mutações no c-kit, por duplicação interna em tandem produzem uma proteína Kit activada que na ausência do ligando provoca a fosforilação da cinase regulada por sinalização extracelular o que provoca sinalização excessiva e perda de controlo sobre o crescimento normal (Longley, Tyrrel, & Lu, 1996; London, Galli, Yuukib, Hub, Helfand, & Geissler, 1999). As duplicações internas em tandem no domínio justamembranar do KIT são mutações comuns nos mastocitomas de canídeos e são observadas em 9-45% dos casos (London *et al.*, 1999; Downing, Chien, Kass, Moore, & London, 2002; Pryer *et al.*, 2003; Webster, Yuzbasiyan-Gurkan, Kaneene, Miller, Resau, & Kiupel, 2006; Letard *et al.*, 2008; Takeuchi *et al.*, 2010).

As mutações no c-kit e a localização aberrante de proteínas KIT estão associadas com a expressão aumentada de Ki67 e regiões organizadoras nucleolares argirófilas (AgNORs), ambos marcadores de proliferação celular aumentada (Kiupel, Webster, Kaneene, Miller, & Yuzbasiyan-Gurkan, 2004; Webster, Yuzbasiyan, Miller, Kaneene, & Kiupel, 2007).

Figura 10 – Corte histológico de mastocitomas cutâneos marcados com anticorpos anti-KIT e corados com hematoxilina (Adaptado de Webster *et al.*, 2006).



Esta imagem é uma representação de 2 padrões de localização do Kit nos mastócitos neoplásicos. Na primeira imagem, da esquerda, pode observar-se o padrão I de marcação, em que o KIT se localiza das proteínas perimembranares dos mastócitos. Na imagem da direita, observa-se a dispersão do KIT no citoplasma dos mastócitos neoplásicos.

Num estudo recente com 191 animais, 26,2% apresentava mutações no c-kit sendo que destes, a maioria (64%) ocorreu no exão 11, mas também nos exões 8 e 9 (34%). Deste grupo de animais apenas 1 apresentava mutação no exão 17. Este estudo provou que as mutações nos exões 8 e 9 são frequentes, ao passo que as mutações no exão 17 são raras. Tal não acontece em humanos, nos quais a mutação do exão 17 do c-kit é bastante frequente, ao contrário da mutação no exão 11, que é rara (Letard *et al.*, 2008).

Também estas mutações no domínio extracelular promovem fosforilação do receptor c-kit sem ligação do SCF. Esta mutação também está descrita em neoplasias humanas como

leucemia mielóide aguda, mastocitose pediátrica e tumores do estroma gastrointestinal de humanos e cães (London, 2009; Takeuchi *et al.*, 2010).

As mutações no kit não são transmissíveis à descendência, pelo que não são responsáveis pela predisposição racial no desenvolvimento de mastocitomas.

Os mastocitomas esplénicos em gato, parecem ter um comportamento semelhante à mastocitose sistémica indolente em humanos, uma vez que é raro encontrar mutações no c-kit de ambos (Dank, Chien, & London, 2002).

1.2.3. Epidemiologia

O mastocitoma cutâneo é uma neoplasia bastante frequente em cães. Representa 11 a 27 % de todos os tumores malignos nesta espécie (Mello De Sousa, Figuera, Irigoyen, & Lombardo de Barros, 2006; Thamm & Vail, 2007) e 10-15% de todos os tumores cutâneos (Pires, Travassos, & Pires, 2003; Gross, Ihrke, Walder, & Affolter, 2005). Em gatos representa cerca de 21% das neoplasias cutâneas (Johnson, Schulman, Lipscomb, & Yantis, 2002; Rodríguez-Cariño, Fondevilla, Segalés, & Rabanal, 2009).

No Reino Unido, em 100 000 cães apresentados à consulta médico-veterinária 126 tem mastocitoma cutâneo (Dobson, Samuel, Milstein, Rogers, & Wood, 2002).

Num estudo recente realizado por Brønden e seus colaboradores (2010), o mastocitoma foi descrito como a mais frequente neoplasia maligna da pele (Brønden, Eriksen, & Kri, 2010).

O mastocitoma cutâneo é tipicamente uma lesão solitária, sólida, de aparência variável, mas pode desenvolver-se mais do que uma lesão sem ligação aparente. A aparência deste tumor pode mimetizar a de muitos outros tumores cutâneos, daí que o mastocitoma deva sempre ser considerado nos diagnósticos diferenciais de qualquer tumor cutâneo (Dobson & Scase, 2007).

1.2.3.1. Raça

Os mastocitomas podem surgir em qualquer raça ou cruzamento de raças de cães, mas há raças com maior incidência.

Em raças com ancestral comum de Bulldogs, como o Boxer, e Boston Terrier, o Bulldog Inglês e o Bullmastiff, pode existir predisposição genética para mastocitoma. As raças Pug, Labrador e Golden Retriever, Cocker spaniel, Dachshund, Schnauzer, Staffordshire Terriers, Beagle, Rhodesian Ridgeback, Weimaraner, Shar-Pei, Pointer, Terrier escocês, Cão de Gado Australiano e Pastor Alemão são também referenciadas com elevada incidência de mastocitomas (Patnaik, Ehler, & MacEwen, 1984; Baker-Gabb, Hunt, & France, 2003; Gross *et al.*, 2005). Animais de raça pequena como Bichon Maltês e Chihuahua são mais susceptíveis a mastocitomas gastrointestinais (Takahashi *et al.*, 2000; Ozaki *et al.*, 2002).

1.2.3.2. Sexo

Embora alguns autores refiram uma maior incidência em fêmeas (Simões, Schoning, & Butine, 1994), em fêmeas castradas e em machos inteiros, a verdade é que nenhum estudo determinou uma tendência para que um dos sexos seja mais afectado por esta neoplasia (Orkin & Schwartzman, 1959; Costa-Casagrande, Elias, Melo, & Matera, 2008).

A maioria dos estudos realizados aponta para que não haja predisposição sexual ou associação entre o sexo e a sobrevivência, com excepção de um estudo realizado por Gerritsen e colaboradores (1998), em que as fêmeas tratadas com quimioterapia, apresentaram prognóstico mais favorável do que os machos na mesma situação (citado por Welle *et al.*, 2008). O elevado número de fêmeas inteiras em relação aos machos presentes no estudo citado, permitiu que as hormonas sexuais tivessem um maior impacto na análise estatística e no comportamento biológico dos tumores estudados, razão pela qual os estudos realizados posteriormente, não obtiveram resultados que permitissem corroborar estes dados (Thamm & Vail, 2007).

1.2.3.3. Idade

O mastocitoma pode desenvolver-se em animais de qualquer idade. Já foi descrito em animais de apenas 3 (Davis *et al.*, 1992) e 7 (Cole, 1990) semanas de idade até adultos de 19 anos (Patnaik *et al.*, 1984). No entanto, o mastocitoma afecta sobretudo cães adultos, com uma média de idades compreendida entre os 8-9 anos (Patnaik *et al.*, 1984; Dobson & Scase, 2007; Costa-Casagrande *et al.*, 2008; London, 2010).

1.2.4. Entidade Clínica

1.2.4.1. Localização

O mastocitoma é considerado por vários autores como “o grande imitador” pela sua capacidade de mimetizar vários tumores, malignos ou não. Os nódulos subcutâneos que se apresentam moles à palpação podem facilmente ser confundidos com lipomas, por exemplo (Thamm & Vail, 2007), pelo que o mastocitoma deve ser considerado nos diagnósticos diferenciais de qualquer nódulo cutâneo (Scott, Griffin, & Miller Jr, 2001 A)

Os mastocitomas desenvolvem-se geralmente na derme ou no tecido subcutâneo mas também podem surgir em localizações extra-cutâneas como a conjuntiva, a órbita (Grahn, Wolfer, & Randall, 1994; Barsoti, Marchetti, & Abramo, 2007), a nasofaringe, a laringe, a cavidade oral, as glândulas salivares mandibulares, a traqueia, o tracto gastrointestinal (Patnaik *et al.*, 1984), a uretra, a medula espinhal e o osso esfenoide (Beltran, De Stefani,

Stewart, De Risio, & Johnson, 2010) e na forma visceral de origem mielóide ou metastática (Moore, Garrett, DeBey, & Biller, 2002; Steffey, Rassnick, Porter, & Njaa, 2004; Marconato *et al.*, 2008).

O mastocitoma surge geralmente sob a forma de nódulos solitários mas em 5-29% dos casos surge na forma de lesões múltiplas (Mullins, Dernell, Withrow, Ehrhart, Thamm, & Lana, 2006; Welle *et al.*, 2008; London, 2010).

Em tumores de elevado grau de malignidade o tumor inicial metastiza para os linfonodos locais assim como para outros órgãos.

A forma visceral, com envolvimento do baço, fígado e/ ou medula óssea, é por norma resultado da disseminação de um tumor primário agressivo com origem cutânea (Tyrrel & Davis, 2001) mas pode surgir um mastocitoma visceral primário por transformação tumoral de mastócitos presentes na medula óssea ou nos órgãos internos (Takahashi *et al.*, 2000; London & Seguin, 2003).

Em gatos a forma cutânea é menos frequente e o mastocitoma surge essencialmente na forma visceral, com origem no baço ou, menos frequentemente, no fígado.

O aspecto tumoral pode correlacionar-se com o grau histológico. Os nódulos solitários, de 1 a 4 cm, de cor rosada à superfície de corte, de crescimento lento e presentes até 6 meses antes do diagnóstico, estão associados a tumores bem diferenciados de baixo grau histológico e podem apresentar alopecia da epiderme suprajacente, não ulcerados. Os mastocitomas de elevado grau histológico são pouco diferenciados, de crescimento rápido, superfície ulcerada, causam desconforto e podem dar origem a pequenos nódulos satélites nos tecidos adjacentes (Thamm & Vail, 2007). Ocasionalmente encontram-se nódulos eritematosos e hiperpigmentados, mas em regra, não são pigmentados.

As lesões nas extremidades, nos lábios e na zona inguinal apresentam-se muitas vezes, como áreas exsudativas heterogêneas ou semelhantes a dermatite acral (Denerolle, White, Taylor, & Vandenabeele, 2007; Welle *et al.*, 2008). Nos Shar-Peis, a forma disseminada do mastocitoma pode causar distensão e deformação das pregas de pele (Lopez, Spracklin, McConkey, & Hanna, 1999; Welle *et al.*, 2008).

A simples palpação ou traumatismo dos nódulos induz a desgranulação de mastócitos e libertação de histamina e outras substâncias vasoactivas, que produzem vasodilatação, edema e eritema local, que constituem o sinal de Darien, fenómeno que os proprietários dos animais referem como alterações periódicas da dimensão do tumor (Scott, Griffin, & Miller, 2001 A; Thamm & Vail, 2007). Por seu turno, a manipulação de mastocitomas viscerais induz vômito e provoca dor abdominal (Govier, 2003; Welle *et al.*, 2008).

Os Boxer, os Pug, os Weimaraner, os Golden Retriever e os Shar-Peis, são raças predispostas a desenvolver mastocitomas múltiplos, que podem aparecer simultaneamente ou em períodos distintos (Welle *et al.*, 2008). Os cães da raça Pug, por exemplo,

desenvolvem mastocitomas múltiplos de carácter benigno, ao passo que os Shar-Peis apresentam mastocitomas biologicamente agressivos (Weiss & Wardrop, 2010).

Os mastocitomas podem encontrar-se nas extremidades (48%-60%), no tronco (25-40%), na cabeça e no pescoço (10-16%) (Sfiligoi, Rassnick, Scarlett, Northrup, & Gieger, 2005), sendo o escroto, o períneo e a base da cauda menos afectados (Welle *et al.*, 2008).

1.2.4.2. Síndromes paraneoplásicas

As síndromes paraneoplásicas associadas aos mastocitomas prendem-se com a libertação de substâncias bioactivas presentes nos grânulos dos mastócitos. Estas podem ocorrer em mais de metade dos animais afectados (Welle *et al.*, 2008) e traduzem-se em atrasos na cicatrização após excisão dos nódulos, hemorragias locais durante a cirurgia, a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e a manipulação do tumor.

A histamina libertada pela manipulação dos mastocitomas, bloqueia os receptores H1 e H2 dos macrófagos, o que induz a libertação do factor supressor dos fibroblastos, diminuindo a síntese de colagénio e consequentemente atrasando a cicatrização (Thamm & Vail, 2007).

As síndromes paraneoplásicas podem também dever-se à libertação de heparina, que aumenta o tempo de coagulação, tanto nos nódulos como à volta dos mesmos. Numa minoria de animais, observa-se também aumento do tempo de coagulação após venoclise (Welle *et al.*, 2008).

Outra síndrome associada a este tumor é a ulceração gastrointestinal, que precede o aparecimento de sinais clínicos como anorexia, vômito, hematoquézia, melena, anemia, dor abdominal e em casos mais graves, perfuração gastrointestinal e peritonite. Esta situação ocorre apenas em tumores de elevado grau de malignidade (Howard, Sawa, Nielsen, & Kenyon, 1969; Dobson & Scase, 2007; Thamm & Vail, 2007). Ainda assim, está descrito que 35 a 83% dos animais com mastocitoma sujeitos a necrópsia apresentam ulceração gastrointestinal (Howard *et al.*, 1969). A patogenia da ulceração gastrointestinal está possivelmente associada a uma combinação entre níveis plasmáticos de histamina aumentados que estimulam os receptores H2 gástricos, excesso de produção de ácido clorídrico pelo estômago, hipermotilidade e lesões vasculares, (London & Seguin, 2003; Thamm & Vail, 2007).

Os mastócitos neoplásicos possuem mais 25 a 50% de histamina que os mastócitos normais e cães com mastocitoma apresentam níveis plasmáticos de histamina significativamente superiores em relação a cães saudáveis, enquanto que os níveis de gastrina permanecem baixos (Thamm & Vail, 2007; Van Gelderen, Archer, & Herrtage, 2010). As concentrações plasmáticas de histamina e gastrina não estão relacionadas com o estadiamento tumoral, grau ou tamanho do tumor, limitando por isso o seu uso clínico em

relação ao diagnóstico e prognóstico dos mastocitomas caninos (London & Seguin, 2003; Thamm & Vail, 2007).

A eosinofilia é uma síndrome paraneoplásica que se verifica com mais frequência em mastocitomas disseminados e pode dever-se à resposta provocada pela produção de IL-2 e IL5 (Gaschen & Teske, 2005; North & Banks, 2009). Está também descrita a ocorrência de glomerulonefrite em cerca de 30% de cães com mastocitomas localizados e em 70% de cães com mastocitose sistémica (North & Banks, 2009).

Os episódios de choque anafilático súbito são raros mas já foram descritos casos de choque hipotensivo em animais com doença metastática e podem ser uma complicação rara provocada pela manipulação tumoral durante a cirurgia (Thamm & Vail, 2007; Dobson & Scase, 2007). Está também descrita a presença de sinais neurológicos como síndrome paraneoplásica associada a mastocitomas de grau II. Os animais apresentaram sinais de hipotonia muscular, hiporreflexia e síndrome vestibular, que cessaram após o início do tratamento com quimioterapia pré-cirúrgica (Rodigheri *et al.*, 2008).

1.2.5. Possível associação entre a inflamação cutânea e o mastocitoma.

O aumento do número de mastócitos ocorre no tecido de granulação, nos neurofibromas, no estroma de carcinomas cutâneos, na urticária pigmentosa, no lúpus eritematoso e nas dermatoses pruríticas, como atopia e dermatite de contacto. Michels, 1938 (citado por Orkin & Schwartzman, 1959), considerou que o número de mastócitos diminuía durante a inflamação aguda, estavam ausentes em feridas e aumentavam em situações de inflamação crónica e de congestão linfática. Contudo na dermatite quer aguda quer crónica, o número de mastócitos presente é bastante elevado.

A hiper-secreção de mediadores inflamatórios pelos mastócitos está envolvida num vasto leque de doenças que atingem a pele dos cães tais como a dermatite atópica e a alergia à picada da pulga (Hammerberg *et al.*, 2001 e Wuersch *et al.*, 2006 citados por Cerrato, Brazis, Valle, Miolo, Puigdemont, 2009). Os mastócitos libertam histamina e TNF- α , pelos mecanismos dependentes e independentes da ligação às Ig-E (Brazis *et al.*, 2000) e respondem à proteína-C reactiva (Fujimoto *et al.*, 2003 citado por Lin *et al.*, 2006). Quando estimulados libertam várias citocinas, quimiocinas e factores de crescimento, que actuam nas reacções de imunidade inata e em reacções de hiperssensibilidade do tipo I.

A sinalização mediada pelo c-kit actua sinergicamente com a activação do receptor de Ig-E na indução da libertação de mediadores e citocinas envolvidas nas reacções alérgicas cutâneas no cão, o que sugere uma forte relação entre a via SCF/c-kit e a patogenia da atopia (Daigle, Moussy, Mansfield, & Hermine, 2010).

As raças mais predispostas à dermatite atópica são Labrador Retriever, Golden Retriever, West Highland White Terrier. Também os Springer Spaniels, Shar Peis, Bull Terriers, Bichons Frisés, e os Tibetan Terriers são apontados como raças de risco elevado (Zur *et al.*, 2002 citado por (Gross, Ihrke, Walder, & Affolter, 2005b) Boxers, Bulldogs Franceses, Bulldogs Ingleses, Boston Terriers, Dálmatas, Cockers Spaniel, American Staffordshire Terriers, Beaucerons, Cairn Terriers e os Cavalier King Charles, Fox Terriers, Jack Russel Terriers, Labrits, Lhasa Apsos, Pastores Alemães, Pugs, Schnauzers miniatura, Scottish Terriers, Sealyham Terriers, Setters Ingleses, Setter Irlandeses, Shar Peis, Shih Tzus, Tervurens Belgas, e Yorkshires Terriers são raças predispostas ao desenvolvimento desta entidade clínica (Scott, Griffin, & Miller Jr, 2001 B). Muitas destas raças são também apontadas como raças predispostas ao desenvolvimento de tumores de mastócitos.

As regiões corporais mais comumente afectadas pela dermatite atópica são a face, as patas, a face caudal dos carpos, extremidades distais, orelhas e abdómen (Gross *et al.*, 2005*). No estudo de Zur e colaboradores em 2002, 76% dos animais apresentaram prurido nas extremidades distais e 60% sofreram otite externa (Zur *et al.*, 2002 citado por Gross *et al.*, 2005*). Também estas regiões são afectadas pela dermatite por contacto com substâncias irritantes presentes no ambiente em que os animais vivem. Áreas com pouco pêlo e zonas glabras são mais susceptíveis às agressões dos agentes irritantes, que podem ser detergentes ácidos ou alcalinos, champôs, sabões, desinfectantes, insecticidas e fertilizantes, por exemplo (Scott, Griffin, & Miller Jr, 2001 C).

A inflamação cutânea é originada pela libertação de mediadores químicos sintetizados nos tecidos lesionados, que promovem alterações da membrana celular, originando a activação da fosfolipase A2 e libertação do ácido araquidónico, cujos produtos de degradação actuam como mediadores do desenvolvimento do processo inflamatório.

A oxidação do ácido araquidónico pode ser realizada por duas vias enzimáticas: a ciclooxigenase (COX) e a lipoxigenase. Os produtos da oxidação do ácido araquidónico via COX são as prostaglandinas (PG), sendo os leucotrienos (LT) os produtos de oxidação via lipoxigenase. Os mastócitos caninos derivados da medula óssea exprimem COX-1, COX-2 e 5-LOX assim como sintetizam e libertam PGD₂, PGE₂, LTB₄ e LTC₄ (Lin & London, 2010). Vários estudos mostraram que linhas celulares de mastocitomas e de mastócitos purificados de canídeos libertam estes importantes mediadores da inflamação sob influência de estímulos antigénicos e químicos (DeVinney *et al.*, 1990; Phillips *et al.*, 1983; Yakabi *et al.*, 2002 citados por Lin & London, 2010). A COX-2, por exemplo, pode ser expressida em resposta a certos estímulos, tais como a presença de citocinas, factores de crescimento, endotoxinas bacterianas e oncogenes. A sobre-expressão da COX-2 nas neoplasias tem sido associada a mecanismos de promoção tumoral, por indução da angiogénese, inibição da apoptose, aumento da capacidade de invasão e metastização, modulação da inflamação e da resposta imune (Coussens & Werb, 2001).

Em cultura de células, a expressão do factor Kit aumenta na presença de IL-4 e IL-10 (Lin & London, 2006).

A sobre-expressão destes mediadores em situações de infecção e inflamação pode levar ao desenvolvimento de inflamação crónica, por exacerbação dos sinais clínicos e estimulação contínua da produção de mediadores inflamatórios.

Uma hipótese plausível que relaciona a inflamação crónica com o desenvolvimento de neoplasias é a de que várias neoplasias têm origem em locais de infecção e inflamação, como formas de defesa do hospedeiro. Surgem cada vez mais evidências de que várias neoplasias como tumores gástricos, cervicais e do colón humanos são iniciados por infecções - cerca de 15% das neoplasias (Blaser *et al.*, 1995; Kuper *et al.*, 2000 citados por Coussens & Werb, 2001). As infecções persistentes no hospedeiro conduzem ao desenvolvimento de inflamação crónica. Leucócitos e outras células fagocitárias induzem danos no ADN das células proliferativas ao gerarem várias formas de oxigénio e nitrogénio reactivos, produzidos normalmente por estas células durante o combate à infecção. As moléculas de oxigénio e nitrogénio reactivos reagem entre si e formam peróxido nitroso, um agente mutagénico (Maeda *et al.*, 1998 citado por Coussens & Werb, 2001). Assim, lesão e regeneração repetidas dos tecidos, na presença de formas de oxigénio e nitrogénio reactivos libertados pelas células inflamatórias, interagem com o ADN dos epitélios em proliferação, resultando em alterações genómicas permanentes, como mutações pontuais, deleções e re-arranjos. Como exemplo, a bactéria gram-negativa, *Helicobacter pylori*, está descrita como agente carcinogénico envolvido na origem do tumor gástrico. A infecção por este agente tem 75% hipóteses de sofrer transformação tumoral (Coussens & Werb, 2001).

Em resumo, pode colocar-se a hipótese de que sendo os membros, o abdómen e as zonas glabras (como axilas e região inguinal/perineal) locais mais expostos às agressões do meio ambiente, como parasitismo, traumatismos, reacções alérgicas induzidas por dermatite atópica, ou dermatite por contacto com substâncias químicas irritantes, são também os locais com maior probabilidade de desenvolver inflamação cutânea crónica e consequentemente, mais predispostos ao aparecimento de mastocitomas cutâneos.

1.2.6. Diagnóstico

O plano diagnóstico de cães com suspeita de mastocitoma tem 3 objectivos: o diagnóstico definitivo por citologia e /ou histopatologia, o estadiamento clínico e o registo de sinais clínicos relativos a síndromes paraneoplásicas (Welle *et al.*, 2008). O diagnóstico definitivo é realizado mediante observação de preparações citológicas e histológicas.

1.2.6.1. Estadiamento Clínico

Antes de se decidir o tratamento é necessário fazer o estadiamento clínico do tumor para se avaliar o potencial metastático deste tumor. O clínico deve por isso recorrer a alguns exames complementares de diagnóstico (London & Seguin, 2003).

Antes da cirurgia é necessário conhecer a extensão do tumor para determinar as margens de remoção cirúrgica, por exemplo. Em casos em que o tumor é móvel ou não apresenta margens homogêneas, esta determinação é difícil. Sempre que o mastocitoma produz uma resposta inflamatória local, deve assumir-se que existe infiltração de mastócitos neoplásicos no local afectado. Nestes casos pode recorrer-se à utilização pré-cirúrgica de corticóides ou a radioterapia para diminuir o tumor e garantir margens isentas de células neoplásicas (North & Banks, 2009).

Na Tabela 2 e na Tabela 3, estão resumidos os sistemas de estadiamento clínico para os mastocitomas. O primeiro, Tabela 2, proposto pela Organização Mundial de Saúde, é um sistema controverso, pois classifica os tumores múltiplos, por exemplo, como tumores de estadio III, facto discutido e estudado por vários autores, que sugerem que os mastocitomas múltiplos não têm pior prognóstico, quando comparados a tumores solitários com o mesmo grau (Thamm, Mauldin, & Vail, 1999; Mullins, Dernell, Withrow, Ehrhart, Thamm, & Lana, 2006).

Tabela 2 – Sistema de estadiamento clínico proposto pela Organização Mundial de Saúde para Mastocitomas (Owen, 1980, citado por Dobson & Scase, 2007).

Estadio	Descrição
0	Um tumor incompletamente retirado da derme, identificado histopatologicamente, sem envolvimento do linfonodo regional. a. Sem sinais sistémicos; b. Com sinais sistémicos.
I	Um tumor confinado à derme, sem envolvimento do linfonodo regional. a. Sem sinais sistémicos; b. Com sinais sistémicos.
II	Um tumor confinado à derme, com envolvimento do linfonodo regional. a. Sem sinais sistémicos; b. Com sinais sistémicos.
III	Tumores dérmicos múltiplos; grandes tumores infiltrativos com ou sem envolvimento do linfonodo regional. 1. Sem sinais sistémicos; 2. Com sinais sistémicos.
IV	Qualquer tumor com metástases à distância ou recorrente com metástases (incluindo envolvimento da medula óssea ou sangue periférico).

Na Tabela 3 está resumido o recente sistema de estadiamento proposto por London (2010), que inclui no estadiamento a presença de infiltração neoplásica dos linfonodos satélites e a metastização.

Tabela 3 - Sistema de classificação proposto por London (2010).

Estadiamento	Tumor (es)	Linfonodo Regional	Metastização
IA	1 Tumor, confinados à pele, <3cm, bem circunscritos.	Negativo	Negativa
IB	>1 Tumor, confinado à pele, bem circunscrito, e com> 10cm de distância inter-lesional.	Negativo	Negativa
II	1 Ou mais tumores na pele, com> 3 cm, mal circunscrito, ulcerado ou com nódulos satélites.	Negativo	Negativa
III	Uma das anteriores	Positivo	Negativa
IV	Uma das anteriores	Positivo ou Negativo	Positiva

1.2.6.2. Perfil hematológico, bioquímico e urianálise

Em qualquer animal suspeito de ser portador de uma neoplasia deve realizar-se um perfil completo de análises hematológicas e bioquímicas. Os cães com mastocitoma podem apresentar anemia por hiperesplenismo ou ulceração gastrointestinal e pode detectar-se eosinofilia devido aos factores quimiotácticos e IL-5 produzidos pelos mastócitos (London *et al.*, 2003).

A análise destes parâmetros pode detectar a existência de envolvimento hepático ou renal, que possa comprometer o tratamento a instituir.

1.2.6.3. Esfregaços da camada flogística.

A validade da avaliação de esfregaços deste tipo para determinar o envolvimento sistémico em cães com mastocitomas cutâneos foi discutida em vários estudos, uma vez que a presença de mastócitos no sangue periférico é mais frequente em situações inflamatórias e afecções infecciosas como pancreatite, pneumonia, parvovirose, doenças cutâneas e gastrointestinais do que em mastocitomas (London & Seguin, 2003; Welle *et al.*, 2008). A baixa especificidade deste método para detecção de mastocitémia que reflita a presença de mastocitoma em cães faz do seu uso, para rastreio e estadiamento tumoral, uma ferramenta

de pouco valor nesta espécie. Contrariamente, nos gatos esta técnica é utilizada para avaliar a presença e progressão da mastocitemia associada à ocorrência de mastocitomas esplênicos, uma vez que após esplenectomia o número de mastócitos circulantes baixa e caso se verifique um aumento, isto pode significar progressão do mastocitoma nesta espécie (Garrett, Craig, Szladovits, & Chun, 2007).

Os mastocitomas viscerais nos cães constituem uma minoria dos casos, pelo que a avaliação de esfregaços sanguíneos está reservada para situações específicas (Scott, Griffin, & Miller Jr, 2001; Dobson & Scase, 2007; Thamm & Vail, 2007) em que os animais apresentem sinais sistêmicos, como vômito ou diarreia, por exemplo (North & Banks, 2009).

1.2.6.4. Citologia de medula óssea

Numa medula óssea normal, a presença de mastócitos é escassa. Os cães com doenças inflamatórias podem apresentar maiores números de mastócitos em aspirados de medula óssea sendo estes indicadores mais sensíveis de envolvimento sistémico, em relação à técnica anteriormente citada (London & Seguin, 2003).

A realização de citologias aspirativas de medula óssea é um método já pouco usado para avaliação de mastocitomas, pois a maioria dos animais com mastocitoma cutâneo não apresenta infiltração da medula óssea e o envolvimento do sangue periférico observa-se raramente, a menos que haja sinais de envolvimento dos linfonodos satélite ou dos órgãos abdominais (Welle *et al.*, 2008). Existem na bibliografia, poucos estudos sobre o envolvimento da medula óssea em mastocitomas. Tyrrel & Davis (2001) descreveram a presença, à necrópsia, de infiltração de mastócitos indiferenciados na medula óssea, que provocaram sinais neurológicos num animal com mastocitoma cutâneo de grau intermédio. O'Keefe (1990) (citado em Thamm & Vail, 2007) obteve esfregaços positivos para a presença de mastócitos na camada flogística em 37% dos casos analisados e 56% dos aspirados de medula óssea apresentaram positividade para as estas células em animais com mastocitoma disseminado. Os casos de mastocitomas viscerais constituem uma minoria de todos os casos de mastocitoma. A presença de mastócitos em esfregaços da medula óssea é normal, quando em baixo número e está descrita a presença de mastócitos hiperplásicos em situações de hipoplasia da medula óssea (Rogers, 2010).

Além disso, os mastocitomas viscerais apresentam um prognóstico reservado pelo que a presença ou ausência de mastócitos circulantes na corrente sanguínea ou em aspirados da medula óssea, em nada altera as decisões de tratamento (Thamm & Vail, 2007; Welle *et al.*, 2008).

1.2.6.5. Citologia de linfonodo

Os linfonodos devem ser cuidadosamente examinados para detectar sinais de linfadenomegália e nos linfonodos suspeitos deve realizar-se citologia. Ainda assim, linfonodos não palpáveis podem ser locais de metastização razão pela qual alguns autores recomendam fazer PAAF a todos os linfonodos regionais acessíveis (London & Seguin, 2003).

A citologia *per se* só diagnostica depósitos metastáticos de mastocitoma no caso de mais de 3% da população celular do linfonodo ser constituída por mastócitos (Duncan, 1999 citado por Dobson & Scase, 2007). De acordo com este critério, estima-se que cerca de 25% de cães sem mastocitoma, sejam diagnosticados como tendo metástases de mastocitoma (Bookbinder et al., 1992 citados por Dobson & Scase, 2007), pelo que o grau de diferenciação citológica e a formação de agregados ou agrupamentos celulares devem ser avaliados para diagnóstico de doença metastática (Dobson & Scase, 2007). A presença de mastócitos, em baixo número, na citologia de linfonodo pode ser normal. As características morfológicas e a distribuição dos mastócitos nos linfonodos definem a metastização precoce (North & Banks, 2009). Deve fazer-se biopsia excisional durante a cirurgia se o linfonodo estiver potencialmente afectado pela migração de células tumorais e proceder-se posteriormente a análise histopatológica (Thamm & Vail, 2007).

1.2.6.6. Imagiologia

Apesar do grande número de mastócitos presentes nos pulmões, locais de habitual metastização de outras neoplasias, nos mastocitomas a metastização para estes órgãos é bastante rara, pelo que as radiografias ao tórax são de baixo valor diagnóstico (North & Banks, 2009). No entanto, podem-se detectar algumas alterações como derrame pleural, linfadenomegália esternal ou peri-hilar e a presença de massas mediastínicas (London & Seguin, 2003) apesar de serem raras (London, 2010). É importante perceber o padrão de drenagem dos linfonodos, para assegurar-se o rastreio dos linfonodos satélites (North & Banks, 2009). A avaliação radiográfica do abdómen é importante pois permite avaliar o envolvimento do fígado e do baço assim como de outras estruturas (London & Seguin, 2003).

A ecografia abdominal tem elevado valor diagnóstico na avaliação do envolvimento do fígado e do baço. No entanto, a aparência ecográfica do baço com mastocitoma, por exemplo, pode ser hiperecogénica, hipoecogénica ou normal, pelo que a ecografia deve ser acompanhada de PAAF ou biópsia ecoguiada, de forma a obter um diagnóstico conclusivo (Ballegeer, Forrest, Dickinson, Schutten, Delaney, & Young, 2007; O'Brien & Barr, 2009). Os dados ecográficos obtidos tais como hepatomegália, esplenomegália ou padrão ecogénico

misto nestes órgãos devem ser sempre acompanhados de PAAF ecoguiada, pois existem outros diagnósticos diferenciais como por exemplo situações inflamatórias, como a esplenite, entre outros. No fígado, os diagnósticos diferenciais variam entre linfoma, histiocitose, cirrose e síndrome hepatocutânea.

A presença de mastócitos em aspirados celulares destes órgãos, deve ser avaliada com cuidado, principalmente se a morfologia for normal, uma vez que a sua presença é geralmente normal nestas localizações (North & Banks, 2009b).

1.2.6.7. Citologia da massa tumoral

O diagnóstico de mastocitomas pode ser feito através de PAAF ou de esfregaço por aposição. A realização de PAAF de massas cutâneas ou subcutâneas é vantajosa antes da cirurgia pois auxilia no diagnóstico desta neoplasia e influencia a decisão do tipo e da extensão de margens cirúrgicas a executar (London *et al.*, 1999). É um método pouco invasivo, de baixo risco para o paciente e de reduzida agressão ao processo neoplásico (Goldschmidt & Hendrick, 2002). O mastocitoma é geralmente diagnosticado em 92 a 96 % dos casos, por exame citológico de esfregaços corados resultantes de PAAF's, cujos diagnósticos são posteriormente confirmados por análise histopatológica (London *et al.*, 1999; Baker-Gabb, Hunt, & France, 2003; Dobson & Scase, 2007; Thamm & Vail, 2007).

Na citologia observam-se células redondas, com grânulos púrpura-avermelhados no citoplasma que variam em tamanho e número, com núcleo redondo ou oval, eventualmente mascarado pelos grânulos citoplasmáticos em situações em que existam células densamente granuladas. Outras células encontradas na citologia são eosinófilos e/ou células fusiformes, presumivelmente fibroblastos (DeNicola, 2007; Teske, 2009).

Os grânulos dos mastócitos coram pelas colorações modificadas tipo Romanowsky, como por exemplo, colorações de rotina como Wright, Giemsa, Leishman ou o Diff Quik TM, usado na prática clínica (Welle *et al.*, 2008). No entanto, alguns grânulos podem corar mal quando se utilizam técnicas de coloração rápida, a não ser que as lâminas sejam imersas no fixador durante pelo menos 5 minutos (DeNicola, 2007). Outro senão do Diff Quik TM é a difícil avaliação de mastocitomas indiferenciados que podem ser difíceis de distinguir de processos inflamatórios, já que estes também contêm mastócitos e eosinófilos. Contudo, na inflamação existe um número considerável de outras células inflamatórias em relação ao número de mastócitos presentes (Thamm & Vail, 2007).

No diagnóstico diferencial de mastocitoma, devem ser incluídos outros tumores de células redondas como o linfoma, o melanoma amelanocítico, o plasmocitoma, o histiocitoma e o tumor venéreo transmissível (London & Seguin, 2003). O melanoma, por exemplo, pode ser confundido com o mastocitoma devido à morfologia celular semelhante e à presença de grânulos citoplasmáticos. A diferença entre ambos reside no tamanho variável, na forma

irregular e na pigmentação dos grânulos dos melanomas, que variam de azul- acizentado a preto-esverdeado (Teske, 2009).

A graduação do mastocitoma implica uma avaliação histológica da morfologia celular e das características de coloração para poder estimar o grau de diferenciação tumoral.

A citologia aspirativa pode indicar o grau de malignidade, porém a histopatologia é mais indicada para a classificação (Sueiro *et al.*, 2002 citado por Costa-Casagrande, Elias, Melo, & Matera, 2008) e para prever o comportamento biológico deste tumor (Murphy & Brearley, 2008). Há relação da citologia com a histopatologia, mas nos mastocitomas indiferenciados esta relação nem sempre é possível (Lavalle, Araujo, Carneiro, & Pereira, 2003).

1.2.6.8. Graduação Histopatológica

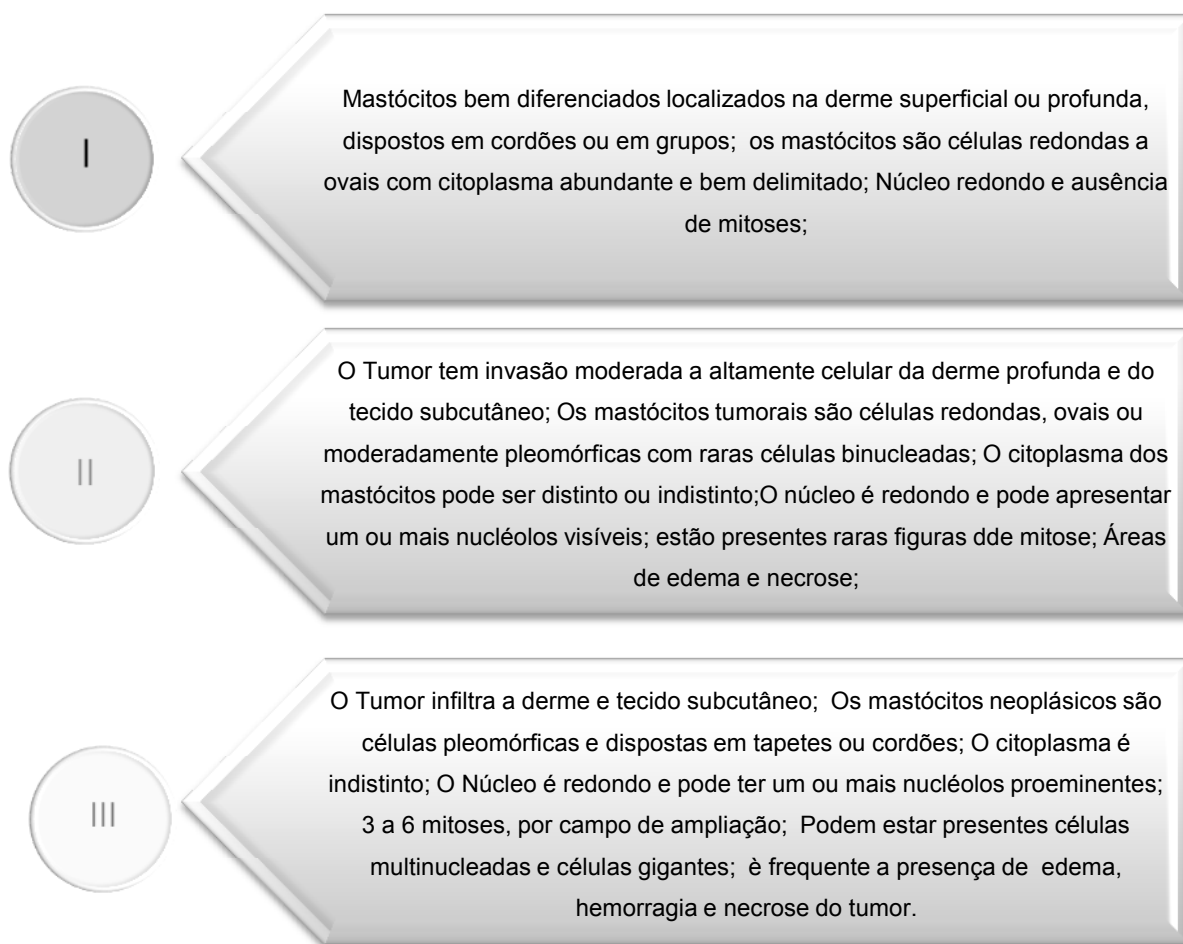
A graduação histopatológica tem sido utilizada há já várias décadas como forma de previsão do comportamento biológico dos mastocitomas. A recorrência, o tempo de sobrevivência e a probabilidade de metastização têm sido associados à determinação do grau de diferenciação celular. Existem vários sistemas de classificação citados na literatura: o de Hottendorf & Nielsen (1967), o de Bostock (1973) e o de Patnaik *et al.*, (1984) (Strefezzi, KleeB, Xavier, & Catão-Dias, 2009).

O grau histológico dos mastocitomas é determinado após biópsia incisional ou excisional, sendo classificado em três graus, de acordo com o sistema de classificação proposto por Patnaik *et al.*, (1984), o mais usado pelos Patologistas por ser o sistema de graduação mais lógico e mais completo (Strefezzi *et al.*, 2009). Esta classificação inclui a avaliação das características celulares, tais como o número de grânulos citoplasmáticos, o grau de anisocariose, o número de figuras de mitose e da invasão tumoral nos tecidos subjacentes. Esta análise é muito importante para determinar o prognóstico e a escolha do tratamento (Goldschmidt & Hendrick, 2002). No entanto, a graduação dos mastocitomas baseia-se em parâmetros subjectivos, o que se traduz em variações entre vários observadores e em vários exames de uma mesma preparação por um mesmo observador, principalmente no que se refere aos tumores de diferenciação intermédia (Strefezzi, KleeB, Xavier, & Dias, 2010).

O tumor apresenta-se geralmente como uma massa não encapsulada, dérmica e/ou hipodérmica, composta por células redondas dispostas em cordões celulares densos ou em toalha. A morfologia celular depende do grau de diferenciação mas, em termos gerais, os mastócitos tumorais apresentam membrana celular distinta, núcleo redondo central e numerosos grânulos citoplasmáticos, corados de violeta pela hematoxilina-eosina ou púrpura quando corados pelo azul de toluidina. O estroma de colagénio varia de escasso a abundante e pode aparecer edematoso ou hialinizado. Vários eosinófilos podem estar dispersos pela massa neoplásica ou formar agregados celulares. Como resposta à

infiltração por eosinófilos, pode ocorrer deposição marcada de mucina, hialinização perivascular e vasculite eosinofílica. Podem também surgir “figuras em chama” que mais não são do que eosinófilos desgranulados, ligados a feixes de fibras de colagénicas (Welle *et al.*, 2008).

Figura 11 - Graduação dos mastocitomas de canídeos proposto por Patnaik *et al.*, (1989).



Na Figura 11 está resumido o graduamento dos mastocitomas proposto por Patnaik *et al.* (1984) baseada em critérios como o diâmetro do núcleo e citoplasma, presença de figuras de mitose, grau de pleomorfismo celular, quantidade de grânulos citoplasmáticos e celularidade.

Os mastocitomas bem diferenciados, de grau I, caracterizam-se por serem pequenas massas bem circunscritas, não encapsuladas, cujas células têm núcleo central pequeno, nucléolo indistinto e citoplasma abundante, rico em granulações citoplasmáticas. Os bordos celulares são distintos, morfológicamente uniformes e as figuras de mitose são raras ou ausentes. A epiderme está normalmente intacta. Segundo a graduação de Patnaik *et al.* (1984), os tumores estão geralmente confinados à derme interfolicular mas outros autores

consideram que estes tumores podem também invadir o tecido subcutâneo (Patnaik *et al.*, 1984; Gross *et al.*, 2005; Welle *et al.*, 2008).

Os mastocitomas de diferenciação intermédia, de grau II, caracterizam-se por serem massas com bordos menos demarcados que os anteriores, formadas por agregados compactos de células com bordos distintos, com uma relação núcleo-citoplasma aumentada, cromatina condensada e com menor número de grânulos comparativamente a tumores bem diferenciados, de grau I, sendo que alguns podem apresentar-se com células de citoplasma indistinto com granulações grandes e hipercromáticas. As figuras de mitose poderão estar presentes, mas em número de 0 a 2 por campo de ampliação (objectiva de 40x). Podem também observar-se células gigantes, binucleadas e, ocasionalmente, células fusiformes. As células estão organizadas em grupos separados por estroma de colagénio que pode ser escasso ou hialinizado com áreas de edema e necrose. Podem ser moderada ou altamente celulares e as células neoplásicas podem infiltrar ou substituir o tecido dérmico ou subcutâneo adjacente. Alguns tumores podem estender-se aos músculos esqueléticos e tecidos circundantes (Patnaik, Ehler, & MacEwen, 1984; Gross *et al.*, 2005).

Os mastocitomas indiferenciados, de grau III, são anaplásicos, mal circunscritos, formados por células que apresentam anisocitose, anisocariose e pleomorfismo, com escassas granulações citoplasmáticas, observam-se por vezes a células multinucleadas. As células apresentam-se redondas, ovais ou fusiformes, agrupadas de forma compacta. O estroma é fibrovascular ou espesso e de natureza colagénica com áreas de hialinização. Podem surgir células com núcleos vesiculosos, denticulados ou redondos, com um ou mais nucléolos e numerosas figuras de mitose. O tumor infiltra o tecido subcutâneo e os tecidos adjacentes. Imagens de edema, necrose e ulceração são comuns no parênquima tumoral (Patnaik *et al.*, 1984; Gross *et al.*, 2005).

A densidade e a morfologia celulares variam significativamente entre graus, pelo que os mastocitomas indiferenciados podem ser confundidos com outros tumores de células redondas. Assim, foram realizados vários estudos para tentar estabelecer um diagnóstico definitivo de mastocitoma através de colorações histoquímicas e imunohistoquímicas.

Um dos métodos histoquímicos usados é o do azul de toluidina, que permite visualizar grânulos metacromáticos em mastócitos. Os tumores mais indiferenciados apresentam metacromasia ligeira a moderada, podendo mesmo predominar a ortocromasia. Nos seus estudos, Rech *et al.*, (2004) e Welle *et al.*, (2008) consideram que as técnicas mais fiáveis para diagnóstico de mastocitomas indiferenciados são a imunohistoquímica com anticorpos anti-triptase e/ou colorações histoquímicas para a actividade da quimase.

Foi recentemente publicado um novo sistema de graduação histopatológica, proposto por 28 Patologistas Veterinários que criaram um novo sistema com apenas 2 graus histológicos: grau baixo e grau alto. Este novo sistema de graduação tem como base os achados morfológicos das células neoplásicas, como o tamanho do núcleo, o padrão da cromatina, o nucléolo, a presença de células multinucleadas e o número de figuras mitóticas. Os mastocitomas de elevado grau histológico requerem para a sua classificação, a presença de uma ou mais das seguintes características: 7 ou mais figuras de mitose por campo de ampliação (10x), 3 ou mais células multinucleadas (com 3 ou mais núcleos) por campo de ampliação (10x), 3 ou mais núcleos atípicos (com indentações marcadas, segmentação e forma irregular) por campo de ampliação (10x), cariomegalia (o diâmetro do núcleo de pelo menos 10% dos mastócitos neoplásicos núcleo tem até 2 vezes o tamanho normal) (Kiupel *et al.*, 2011). Este estudo, não apresentou associação entre a profundidade da infiltração dos mastócitos neoplásicos e o prognóstico, tal como já havia sido demonstrado num estudo anterior, no qual não se encontrou associação entre a profundidade do tumor e a sobrevivência dos pacientes (Kiupel *et al.*, 2005).

Para avaliar as lesões, foram escolhidos os campos com a maior atípia, actividade mitótica ou pleomorfismo (Kiupel *et al.*, 2011).

1.2.6.9. Infiltrado de eosinófilos

Na análise histopatológica de mastocitomas encontram-se frequentemente infiltrados de eosinófilos, de intensidade variável. Muitos tumores terão agregados periféricos de eosinófilos que não devem ser interpretados como componentes do tumor quando se avaliam as margens (Goldschmidt & Hendrick, 2002). A presença de eosinofilia associada ao tumor (EAT) está descrita em humanos, em vários tipos de carcinomas e adenocarcinomas e raramente em alguns sarcomas entre os quais os tumores hematopoiéticos. Os eosinófilos podem ter um papel protector contra a progressão tumoral, uma vez que estão envolvidos na resposta imunitária do hospedeiro, provavelmente através da síntese e secreção de proteínas citotóxicas. Podem não estar apenas envolvidos no processo inflamatório que habitualmente acompanha o tumor mas actuar em sinergia com os macrófagos contra este, ao aumentar a actividade tumoricida dos macrófagos.

A EAT está descrita em vários estudos de Medicina Veterinária como, por exemplo, em linfomas cutâneo e do tracto gastrointestinal (Gross, Ihrke, Walder, & Affolter, 2005; Ozaki, Yamagami, Nomura, & Narama, 2006), em linfomas tipo Hodgkin, associado a síndrome hipereosinofílica no furão, associada ao mastocitoma de esquilo com metástases nos linfonodos (He, Uchida, Tochitani, Uetsuka, Miwa, & Nakayama, 2009), mastocitoma multicêntrico em cavalo (Millward *et al.*, 2010), em bovinos (Ames & O'Leary, 1983), em lamas (Lin, Hamberg, Pentecost, Wellman, & Stromberg, 2010), cães (Simões *et al.*, 1994;

Ozaki *et al.*, 2006) e gatos (Wilcock *et al.*, 1986, Molander-McCary *et al.*, 1998, citado por Wright & Chretien, 2006; Thamm & Vail 2007; Peaston & Griffey, 1994 citado por Rassnick, *et al.*, 2008).

1.2.7. Prognóstico

Nenhum factor por si só é capaz de prever o comportamento biológico ou a resposta ao tratamento em cães afectados por mastocitomas (Kiupel M. , Webster, Miller, & Kaneene, 2005). Factores como a localização, os sinais clínicos, o ritmo de crescimento, o tamanho, a presença de síndromes paraneoplásicas, a raça, o sexo e o estadiamento clínico podem influenciar o prognóstico, mas o factor mais valioso é o grau histopatológico (Welle *et al.*, 2008). Outros factores foram também estudados, como a excisão cirúrgica completa, número de regiões organizadoras nucleolares argirófilas (AgNOR), ploidia do ADN, metaloproteinases de matriz 3 e 9, triptase, quimase, densidade microvascular e a expressão anormal do gene supressor tumoral p53 (London *et al.*, 2003) (Kodre, Cemazar, Pecar, Sersa, Cör, & Tozon, 2009) para determinar o valor de prognóstico em casos de mastocitoma.

1.2.7.1. Localização e aparência do tumor

Os mastocitomas presentes no leito ungueal, na cavidade oral, no focinho e nas mucosas estão frequentemente relacionados com piores prognósticos, quando são comparados com tumores presentes noutras localizações (Govier, 2003; Thamm, Turek, & Vail, 2006). Os tumores na cabeça estão associados a pior prognóstico em comparação com os que se originam nos membros, independentemente do grau do mastocitoma (Dobson & Cohen, 2004).

Foi demonstrado que tumores na região inguinal e perineal não apresentam pior prognóstico e taxas de sobrevivência menores que tumores em outras localizações (Cahalane *et al.*, 2004; Sfiligoi, Rassnick, Scarlett, Northrup, & Gieger, 2005), mas apesar de estatisticamente não haverem diferenças, outros autores consideram que tumores nestes locais devem ser considerados como de risco elevado de recidiva e de metastização (Thamm & Vail, 2007). Os tumores localizados no tecido subcutâneo podem ter melhor prognóstico do que aqueles que primariamente se formam na derme e invadem depois o tecido subcutâneo (Newman, Mrkonjich, Walker, & Rohrbach, 2007), uma vez que apresentam comportamento biológico menos agressivo.

Os mastocitomas com origem visceral (tubo gastrointestinal, fígado, baço), medula óssea ou presentes no sangue periférico, têm prognóstico grave (London & Seguin, 2003; Marconato *et al.*, 2008).

Os mastocitomas múltiplos apresentam baixas taxas de metastização e os resultados dos estudos efectuados mostraram que quando tratados com cirurgia e quimioterapia ou radioterapia, as taxas de sobrevivência são comparáveis às dos tumores de grau intermédio, solitários (Thamm *et al.*, 1999; Mullins, Dernell, Withrow, Ehrhart, Thamm, & Lana, 2006). Contudo alguns autores associam-nos a piores prognósticos e menores taxas de sobrevivência (Kiupel *et al.*, 2005; Thamm *et al.*, 2006; Furlani *et al.*, 2008). A ulceração, o eritema ou o prurido foram associados a tumores de pior prognóstico (Thamm *et al.*, 1999; Mullins *et al.*, 2006).

1.2.7.2. Taxa de crescimento e tamanho

Os tumores presentes no animal por longos períodos de tempo (meses ou anos) sem alteração, são geralmente benignos e os que se apresentem há pelo menos 7 meses estão associados a melhor prognóstico (Thamm & Vail, 2007; Welle *et al.*, 2008). Os tumores com tamanho >3cm estão associados a pior prognóstico (Mullins *et al.*, 2006)

1.2.7.3. Raça

Apesar dos cães com descendência de Bulldog apresentarem um risco maior de desenvolver mastocitomas, estes apresentam um carácter benigno. Os Boxers são uma das raças com maior prevalência de mastocitomas, em idades mais jovens e desenvolvem geralmente tumores de grau I e II, com prognóstico mais favorável. Por seu turno, os Shar-Peis desenvolvem mastocitomas em idades precoces (média de 4 anos), frequentemente agressivos. Os Labrador Retriever apresentam comumente mastocitomas mais agressivos comparativamente a outras raças (Welle *et al.*, 2008). Já a raça Pug apresenta tendencialmente tumores de grau baixo a intermédio (94%) (McNiell, Prink, & O'Brien, 2006). No seu estudo, McNiell e colaboradores (2006) mostraram que dos 64 cães da raça Pug estudados apenas 3 morreram devido ao mastocitoma, o que indica uma predisposição desta raça para tumores de comportamento biológico benigno. Não obstante, todos os mastocitomas devem ser tratados como sendo potencialmente malignos, independentemente da raça (London *et al.*, 2003).

1.2.7.4. Sexo e idade

Apenas um estudo demonstrou que as fêmeas apresentam melhor prognóstico que os machos quando ambos os sexos são tratados com quimioterapia (Gerritsen, 1998 citado por Welle *et al.*, 2008). Num estudo desenvolvido por Kiupel *et al.*, (2005) os machos idosos apresentaram tempos de sobrevivência menores do que as fêmeas em estudo. Ainda neste

estudo, os animais da raça Boxer e os animais idosos demonstraram maior predisposição para desenvolver mastocitomas múltiplos.

1.2.7.5. Estadiamento clínico

Os tumores de estadio 0 a 1 (Tabela 2) apresentam melhor prognóstico do que tumores de estadios superiores. A presença de metástases no momento do diagnóstico inicial de mastocitoma diminui substancialmente o tempo de sobrevivência do animal (Sfiligoi *et al.*, 2005).

Os tumores de estadio 2 podem ser tratados, com relativo sucesso e atingir intervalos livres de doença e taxas de sobrevivência comparáveis às de animais com estadio 0 quando são tratados com cirurgia e com quimioterapia adjuvante como a Prednisolona associada a Vimblastina (Thamm *et al.*, 2006).

Os tumores múltiplos quando extirpados completamente e sujeitos à mesma terapêutica que tumores solitários, têm baixas taxas de metastização e a sua recidiva não afecta a sobrevivência dos animais (Mullins *et al.*, 2006). As recidivas pós-cirugicas estão associadas a prognósticos reservados. A abordagem terapêutica inicial mais correcta pode evitar a recidiva tumoral e consequentemente melhorar o prognóstico a longo prazo, mais do que tratamento agressivo do tumor recorrente (Thamm & Vail, 2007).

1.2.7.6. Sinais clínicos

Os sinais sistémicos como vômito, anorexia, melena, dor, eritema generalizado e edema associado à exocitose de substâncias vasoactivas pelos mastócitos, estão mais associados a mastocitomas viscerais e como tal, a prognósticos reservados. Num estudo realizado com 16 casos de mastocitoma visceral, o tempo médio de sobrevivência foi de 90 dias e todos os animais morreram durante o período de acompanhamento (Thamm & Vail, 2007). No estudo de Mullins *et al.*, (2006) 20% dos animais apresentaram sinais clínicos e intervalos livres de doença menores.

1.2.7.7. Metastização

Os mastocitomas metastizam inicialmente nos linfonodos locais (Gross *et al.*, 2005) e com menor frequência para o baço (46%), fígado (41%) ou outros órgãos internos. A metastização nos pulmões é extremamente rara (London & Seguin, 2003).

Quando a medula óssea é afectada, o prognóstico é pior e o tempo de sobrevivência é menor, mesmo com diferentes abordagens de tratamento, com ou sem quimioterapia (Tyrrel & Davis, 2001; Marconato, *et al.*, 2008).

1.2.7.8. Marcadores genéticos e imunohistoquímicos

1.2.7.8.1. Ploidia do ADN

Os mastocitomas que apresentam aneuploidia de ADN estão relacionados com tempos de sobrevivência inferiores em estadios tumorais elevados, quando comparados a tumores em estadio I (Ayl *et al.*, 1992 citado por Welle *et al.*, 2008). Contudo, os tumores aneuplóides têm pouca relação com o grau histológico, pelo que a ploidia do ADN parece não ser bom método para predizer o prognóstico (Govier, 2003; Welle *et al.*, 2008).

1.2.7.8.2. Regiões organizadoras nucleolares argirófilas (AgNOR)

A técnica de AgNOR marca o ADN ribossomal e permite a visualização do nucléolo e o número de pontos corados pela prata em núcleos de células, sendo a sua contagem uma forma indirecta de medir a proliferação celular. A contagem de AgNORs foi descrita pela primeira vez em 1989, em mastocitomas caninos, por Bostock *et al.*, e permite correlacionar o grau histológico com o prognóstico. Assim, quanto maior o número de AgNORs por núcleo, pior o prognóstico (Rech *et al.*, 2004).

1.2.7.8.3. Antígeno proliferativo celular nuclear (PCNA)

O PCNA é uma proteína necessária à síntese do ADN e a sua expressão está associada à proliferação celular. Simões e seus colaboradores (1994) demonstraram que este marcador era um bom indicador de prognóstico, uma vez que o PCNA estava significativamente elevado em tumores recorrentes e metastáticos. Foi também associado a tempos de sobrevivência menores mostrando-se um bom indicador prognóstico quanto à sobrevida e recidiva (Webster *et al.*, 2007).

Para Abadie *et al.*, (1999) e Scase *et al.*, (2006) (citados por Strefezzi *et al.*, 2010), o índice de PCNA foi maior nos cães que morreram devido à evolução do mastocitoma do que nos sobreviventes mas, apesar disso, estatisticamente não se demonstraram diferenças significativas quando se agruparam os casos com base nos graus histopatológicos e no tempo de sobrevida. Contudo, no seu estudo, Strefezzi *et al.*, (2010) corroboram os dois grupos de investigação anteriormente citados, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas entre o índice de PCNA dos animais sobreviventes e dos falecidos.

1.2.7.8.4. Ki-67

O Ki-67 é uma proteína não histónica constituída por 2 subunidades e está presente durante as fases activas do ciclo celular e ausente nas células que estão fora desse ciclo, razão pela qual os níveis de Ki-67 no núcleo estão relacionados com a proliferação celular (Webster *et al.*, 2007). A elevada expressão de ki-67 em mastocitomas está relacionada com mortalidade aumentada e elevadas taxas de recidiva e metastização. O ki-67 mostrou-se mais fiável do que os AgNORs na identificação de mastocitomas associados a menores taxas de sobrevivência tanto em tumores cutâneos (Simões *et al.*, 1994; Webster *et al.*, 2007) como em tumores do tecido subcutâneo (Thompson *et al.*, 2011). Foi recentemente publicado um estudo que corrobora as conclusões anteriores quanto à taxa de sobrevivência dos tumores cutâneos. Contudo, segundo os autores, estas diferenças podem dever-se aos diferentes números de animais das amostras estudadas (Strefezzi *et al.*, 2010).

1.2.7.9. Índice mitótico

É uma forma relativamente simples e indirecta de medir a proliferação celular semelhante ao método AgNOR e ao Ki-67 que permite avaliar o prognóstico de forma semelhante a estes (Romansik, Reilly, Kass, Moore, & London, 2007). Contudo, este método tem a vantagem de não necessitar de técnicas de coloração especiais, podendo ser avaliado com a simples coloração por Hematoxilina-Eosina. Os estudos de Romansik *et al.* (2007) e Thompson *et al.*, (2011) mostraram a existência de correlação entre o índice mitótico, o grau histopatológico, a taxa de ocorrência de metástases e o tempo de sobrevivência em mastocitomas cutâneos e subcutâneos. Tumores de grau II com elevados índices mitóticos revelaram estar associados a tempos de sobrevivência reduzidos.

1.2.7.10. Grau histológico

O grau histológico é o factor de prognóstico mais consistente e o que melhor se correlaciona com a sobrevivência, apesar de não prever o comportamento benigno ou maligno dos mastocitomas (Goldschmidt & Hendrick, 2002; Webster *et al.*, 2007; Strefezzi *et al.*, 2010).

O sistema de gradação mais vulgarmente usado é o de Patnaik *et al.*, (1984).

O recente sistema de classificação proposto por Kiupel *et al.*, (2011) que classifica os mastocitomas em grau baixo e grau alto, revelou maior consistência no estabelecimento do prognóstico. Os mastocitomas com maior grau histológico foram associados a intervalos de tempo menores até à ocorrência de metastização ou desenvolvimento de novos tumores e não se verificou associação entre o grau e a ocorrência de tumores múltiplos.

O risco de morte devido a mastocitomas de elevado grau histológico é 53,8 vezes o risco de morrer por mastocitomas de baixo grau histológico. O tempo médio de sobrevivência é menor do que 4 meses para tumores de elevado grau histológico e mais de 2 anos para mastocitomas de baixo grau histológico.

Este novo sistema de classificação permite uma maior consistência nas avaliações das preparações histológicas entre Patologistas e tem uma maior utilidade clínica, uma vez que permite eliminar a ambiguidade dos prognósticos associados ao grau II do sistema de Patnaik (Kiupel *et al.*, 2011).

Na Tabela 4 é apresentado o resumo da relação entre o sistema de graduação de Patnaik *et al.* (1984) e o prognóstico dos mastocitomas.

Tabela 4 – Relação entre o Prognóstico e o sistema de graduação de Patnaik *et al.* (1984).

Grau	Descrição
I	<u>Tumores bem diferenciados</u> , de comportamento benigno. A excisão cirúrgica completa é geralmente curativa. Representam entre 30 – 50 % de todos os tumores descritos. Vários estudos retrospectivos demonstraram que 75 – 90% dos cães não morrem em consequência desta doença, após terapêutica definitiva (London & Seguin, 2003).
II	<u>Tumores de diferenciação intermédia</u> , representam 25-45% de todos os mastocitomas referenciados e o seu comportamento biológico é difícil de prever. A excisão cirúrgica destes tumores é um desafio pois as células neoplásicas invadem os tecidos subjacentes. O tempo médio de vida após diagnóstico de mastocitoma de grau II foi inicialmente estipulado por Bostock <i>et al.</i> , (1973) em 28 semanas mas, num estudo recente, Fulcher <i>et al.</i> , (2006) demonstraram que o tempo médio de vida é de 538 dias , cerca de 77 semanas, segundo o método estatístico de Kaplan-Meier. Os tumores de grau II podem metastizar nos linfonodos locais ou em áreas distantes do tumor inicial. (Weiss & Wardrop, 2010).
III	<u>Tumores indiferenciados</u> representam cerca de 20-40% de todos os tumores estudados. Tendem a ser biologicamente agressivos, exibindo metastização precoce. Quando sujeitos apenas a tratamento cirúrgico, os cães têm uma sobrevivência média de 18 semanas. Segundo Patnaik <i>et al.</i> , (1984) a percentagem de animais que sobrevive até aos 1500 dias, cerca de 214 semanas, é de 6%. Por seu turno, Abadie <i>et al.</i> , 1999 (citado por Longon & Séguin, 2003) determinaram que 7% dos animais com tumores de grau III sobrevive até aos 24 meses. A realização de quimioterapia pós-cirúrgica permite aumentar o tempo de vida destes animais, assim como a radioterapia quando aplicada a tumores incompletamente extirpados, pode resultar em intervalos de tempo livre de doença que podem chegar aos 27,7meses (London, 2010).

1.2.7.11. Presença de mutações no c-kit detectadas por marcação imunohistoquímica

As mutações que ocorrem nos exões 11 e 12 em cães e no exão 17 dos humanos contribuem para a agressividade biológica dos tumores dos mastócitos. As duplicações internas em tandem (ITD's) do c-kit são identificadas em 15-40% dos mastocitomas caninos e têm 5 vezes mais probabilidade de estar associados a mastocitomas de grau II e de grau III (Letard *et al.*, 2008; Welle *et al.*, 2008). Os animais com mutações no c-kit por ITD's apresentam tempos de sobrevivência significativamente menores e taxas de mortalidade maiores, devido a morte relacionada com mastocitoma, quando são apenas tratados com cirurgia (Webster *et al.*, 2006). Além disso apresentam maior incidência de recidiva no local do tumor inicial assim como em locais distantes deste. A marcação por imunohistoquímica do c-kit permite reconhecer o padrão de distribuição citoplasmática deste.

Mastócitos normais e alguns mastócitos neoplásicos exprimem c-kit somente na membrana celular, enquanto a maioria dos mastócitos neoplásicos apresenta padrões de expressão do c-kit adjacentes ao núcleo (Kiupel *et al.*, 2004).

No estudo de Kiupel *et al.* (2004), os padrões de marcação celular do c-kit nos mastócitos neoplásicos, o KIT-II e o KIT-III, estão significativamente relacionados com maiores taxas de recidiva local e menor tempo de sobrevivência dos animais. A localização aberrante do c-kit está relacionada com o aumento da actividade proliferativa dos mastocitomas (Kiupel *et al.*, 2004; Northrup *et al.*, 2005).

Esta técnica foi entretanto confirmada em associação a outros marcadores como PCNA, Ki-67 e AgNORs e concluiu-se que a associação do estudo destes marcadores confere uma melhor caracterização do comportamento biológico dos mastocitomas (Webster *et al.*, 2007).

1.3. Tratamento

1.3.1. Mastocitomas bem diferenciados e de grau intermédio

O tratamento de tumores bem diferenciados (grau I) ou de grau intermédio (II), na maioria dos casos, consiste na completa remoção cirúrgica dos mesmos.

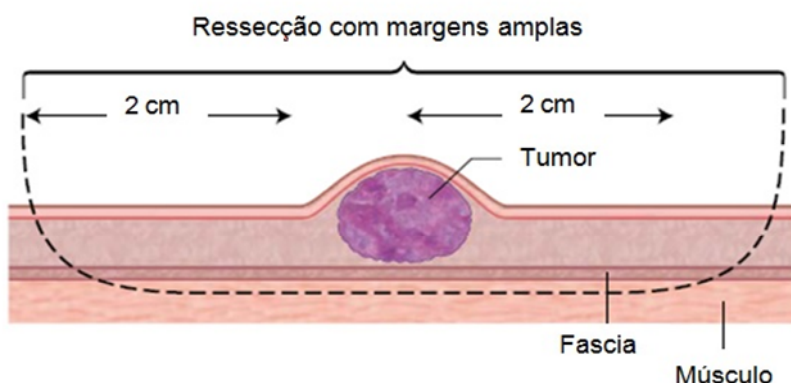
As taxas de sucesso deste tratamento apontam para controlo efectivo do tumor em cerca de 84-89% dos casos de tumores de grau II, 5-11% de recorrência local e 5-22% de casos de metastização á distância. Ainda assim, 44% dos casos estudados apresentaram desenvolvimento de novos mastocitomas (Welle *et al.*, 2008).

Durante algum tempo vigorou a ideia de que estes tumores tinham de ser extirpados com margens de 3 cm de tecido normal circundante mas actualmente retiram-se lateralmente 2 cm de tecido e pelo menos uma camada de tecido muscular, em profundidade, para excisão completa de tumores de grau I e também da maioria dos de grau II (Fulcher, Ludwig, Bergman, Newman, Simpson, & Patnaik, 2006).

A consolidação e a redução do tumor antes da cirurgia podem ser obtidas com a toma de prednisolona, o que aumenta a probabilidade de ressecção total daquele, em 70% dos casos (Dobson & Cohen, 2004; Stanclift & Gilson, 2008). Após excisão as margens devem ser analisadas por histopatologia, para determinar se estão efectivamente livres de células tumorais.

Os tumores localizados nas extremidades podem ser abordados de diferentes formas, nomeadamente por amputação, que é a forma mais eficaz de controlar o tumor, ou por radioterapia e excisão cirúrgica, que proporciona elevadas taxas de controlo local efectivo e salvaguarda a funcionalidade do membro, por exemplo. Na Figura 12 está esquematizada a extirpação cirúrgica dos mastocitomas.

Figura 12 - A remoção cirúrgica de um mastocitoma deve ser feita com margens laterais de 2 cm e deve incluir o músculo panicular adjacente (Adaptado de North & Banks, 2009).



Em tumores de grau intermédio, cuja excisão não seja completa, a taxa de recidiva pode ir até aos 23% (Séguin *et al.*, 2006).

A radioterapia como meio complementar de tratamento, auxilia a eliminação de células tumorais e dá origem a intervalos livres de doença de 1 a 2 anos, em cerca de 81 - 95% dos casos tratados (Poirier, Adams, Forrest, Green, Dubielzig, & Vail, 2006).

Pelo contrário, os tumores de maior risco, nomeadamente, de grau II, estágio II, grau III e tumores em junções muco-cutâneas, a radioterapia profilática não demonstrou aumento da sobrevivência (Poirier *et al.*, 2006).

1.3.2. Mastocitomas bem diferenciados e de grau intermédio com envolvimento dos linfonodos.

Em tumores cutâneos solitários com metástases no linfonodo regional (estádio II), o tratamento cirúrgico associado a irradiação proporciona uma média de 40,6 meses de intervalo livre de doença. Pode também recorrer-se a quimioterapia, mas a terapêutica sistémica destes casos é questionável (Welle *et al.*, 2008)

1.3.3. Mastocitomas de Grau II e III

Nestes tumores, o tratamento cirúrgico pode ajudar a aliviar os sinais do tumor primário, mas a abordagem deve ser feita com muita precaução, uma vez que estes tumores são muito infiltrativos e é frequente a deficiente cicatrização e deiscência das suturas (Murphy & Brearley, 2008).

Alguns autores consideram que nestes tumores, o tratamento local é insuficiente. O uso de várias formas de tratamento e a realização de quimioterapia com vimblastina associada a prednisolona pode aumentar o intervalo de tempo sem doença até 45 meses e 65% dos pacientes sujeitos a estes tratamentos, viveram até 3 anos (Thamm *et al.*, 2006; Webster *et al.*, 2008). Nestes casos, o controlo local exclusivo do mastocitoma é pouco fiável, sendo o prognóstico reduzido a uma média de 5 meses de vida (Thamm *et al.*, 1999).

A sobrevivência de cães com tumores de risco elevado de recidiva e metastização, como os presentes em zonas de transição muco-cutânea, gengivais, perineais, prepuciais, ou ungueais, de grau II estágio II ou grau III, varia entre 3,5 meses em animais cujo tratamento é exclusivamente cirúrgico, a uma sobrevivência média de 20 meses em animais com tratamento cirúrgico e radioterapia (Patnaik *et al.*, 1984; Simões *et al.*, 1994; Murphy *et al.*, 2004).

Nos casos em que não seja possível realizar a extirpação do tumor, pode recorrer-se a cirurgia citorrredutiva e radiação com fracções de 6-8 Gy, na dose total de 26-36 Gy, seguida de quimioterapia com vimblastina/prednisolona.

1.3.4. Mastocitomas metastáticos ou recidivantes.

Quando o tratamento inicial não é eficaz, 5-23% dos animais apresentam recidivas do tumor primário. Nestes casos, deve fazer-se a re-avaliação e estadiamento do (s) novo (s) tumor (es). Ainda assim, 44% dos animais clinicamente livres de um mastocitoma, podem apresentar novas lesões. Nos casos de mastocitoma com metastização visceral, a terapêutica local, deve ser sempre acompanhada por terapêutica sistêmica, como quimioterapia citotóxica e terapêutica de suporte para controlar e reduzir os efeitos sistêmicos da libertação de mediadores (Welle *et al.*, 2008; North & Banks, 2009).

Em animais com indícios claros de metastização, a cirurgia pode não ser opção, a não ser que a qualidade de vida do animal esteja comprometida.

O tratamento de escolha será sempre paliativo e pode incluir prednisolona e/ou quimioterapia com vários protocolos: vimblastina/prednisolona, vimblastina/prednisolona/ciclofosfamida, lomustina, vimblastina/prednisolona/lomustina, clorambucil/prednisolona.

1.4. Avanços da quimioterapia

Neste tipo de neoplasia, a quimioterapia é indicada no tratamento da doença sistêmica, para diminuir o volume da neoplasia antes do tratamento cirúrgico, a fim de evitar as recidivas da doença, inclusivamente nos casos em que os bordos cirúrgicos não ficaram livres de células neoplásicas, na existência de metástases nos linfonodos locais ou distantes e em situações em que a radioterapia não esteja acessível ou não possa ser efectuada (Costa-Casagrande *et al.*, 2008; Welle *et al.*, 2008).

A quimioterapia está indicada nos tumores multicêntricos, de grau II e III, doenças com estadio clínico avançado e tumores com características biológicas sugestivas de agressividade, como tratamento adjuvante ou paliativo de tumores metastáticos e ainda como tratamento neo-adjuvante quando usado antes da cirurgia (Murphy *et al.*, 2004).

Vários protocolos quimioterápicos foram e estão a ser avaliados como tratamentos adjuvantes antes ou após a cirurgia e/ou a radioterapia.

1.4.1. Protocolos mais usados: Prednisolona, Vimblastina, Clorambucilo, Ciclofosfamida e Lomustina.

A acção da prednisolona como agente único, antes da excisão cirúrgica ou irradiação (neo-adjuvante), em combinação com vimblastina, vimblastina e ciclofosfamida, vincristina e hidroxiureia e ainda vimblastina e lomustina foi descrita em vários estudos.

Os glucocorticóides têm actividade citotóxica contra os mastocitomas e o tratamento com estes fármacos está associado a um número limitado de efeitos adversos (Stanclift & Gilson, 2008). A sua acção é mediada pela interacção com os receptores de glucocorticóides no citosol e no núcleo, dando origem à diminuição do número de mastócitos e a morte celular (Takahashi *et al.*, 1997).

A administração de glucocorticóides como tratamento neo-adjuvante permite a redução de até 80,6% do volume tumoral e 45,2% do diâmetro máximo do tumor, facilitando a extirpação cirúrgica quando as margens do tumor não consigam ser confinadas, pela dimensão e/ou localização do mastocitoma (Stanclift *et al.*, 2008). Contudo, apesar da diminuição do tamanho, as margens tumorais podem não estar isentas de células neoplásicas e deve ter-se em conta a administração destes fármacos antes da cirurgia, para não induzir à remoção de margens inseguras.

Em 2004, Dobson e a sua equipa estudaram o efeito dos glucocorticóides em tumores localizados na cabeça e nos membros de 35 animais que posteriormente foram sujeitos a radioterapia. A taxa de resposta ao tratamento foi de 88,5%, demonstrando a grande eficácia na combinação destes tratamentos em tumores localizados em locais de difícil extirpação.

Em protocolos com outros agentes, a prednisolona mostrou-se eficaz em associação com a Vimblastina, por exemplo. Thamm *et al.*, (1999) demonstraram que a combinação de Prednisolona (2mg/kg SID PO) com Vimblastina (2mg/m² EV) é um bom protocolo para tratamento dos mastocitomas em canídeos e tem um perfil aceitável de efeitos adversos com um tempo médio de sobrevivência para animais com tumores de grau III de 331 dias sendo que 45% estavam vivos até 2 anos após o início do tratamento. Em 2006, Thamm e colaboradores publicaram um estudo que comprovou a eficácia deste tratamento em animais com tumores de risco elevado de metastização, após cirurgia ou radioterapia, nos quais se observou uma média de sobrevivência de 196 semanas, sendo que 70%, 58% e 53% dos animais com tumores de grau III estavam vivos após 1, 2 e 3 anos após o tratamento, respectivamente. Num estudo recente, Webster e a sua equipa (2008) reforçaram a ideia dos benefícios deste protocolo de quimioterapia e a sua relação com os factores de prognóstico.

O protocolo que associa Vimblastina, Ciclofosfamida e Prednisolona também se mostrou eficaz nos grupos de controlo em que foi aplicado, obtendo taxas de resposta global de 63%

em 11 animais, sendo por isso uma alternativa para o tratamento de mastocitomas (Camps-Palau *et al.*, 2007)

No estudo realizado por Taylor, Gear, Hoather, & Dobson, 2009 a associação de Clorambucilo com prednisolona obteve uma taxa de remissão tumoral de 38% nos 21 animais estudados, com um tempo médio de sobrevivência de 143 dias.

Em 1999, Rassnick e a sua equipa realizaram o estudo de um protocolo de fármaco único com lomustina e obtiveram 43% de resposta global ao tratamento de tumores de grau II e III que não responderam ao tratamento com outras terapêuticas. A Lomustina associada à prednisolona demonstrou ter uma boa eficácia em tumores de grau II incompletamente extirpados. O período livre de doença aos 1 e 2 anos foi de 100% e 77%, respectivamente, dos animais estudados.

Nenhum dos animais em estudo desenvolveu recidivas ou metastização tumoral. Ainda assim, 17% desenvolveram doença hepática grave que resultou em morte (Hosoya *et al.*, 2009).

Em conjugação com a Vimblastina, a Lomustina apresenta uma resposta global mais eficaz: 57% de resposta global ao tratamento com Vimblastina e Lomustina (Cooper, Tsai, & Bennett, 2009) contra 43% quando usada em protocolo de fármaco único (Rassnick *et al.*, 1999). Apesar da taxa de sucesso, este protocolo apresentou toxicidade em 54% dos animais tratados, que se manifestou a nível hepático e renal.

Em resumo, apesar de o tratamento com Lomustina prolongar o tempo de vida dos animais com tumores de grau II ou III ou com factores negativos de prognóstico, este fármaco tem sido associado à indução de efeitos cumulativos que se traduzem em toxicidade hepática crónica, relacionada com a dose e, hematopoiética, caracterizada por neutropénia, trombocitopénia, ascite e efusões pleurais (Welle *et al.*, 2008; Hosoya *et al.*, 2009).

Na Tabela 5 estão resumidos os resultados dos principais estudos feitos com fármacos quimioterápicos e as percentagens de resposta ao tratamento.

Tabela 5 – Principais tratamentos com quimioterapia.

Agente	Nº Animais	Resp. completa (%)	Resp. parcial (%)	Resp. global (%)	Duração média resposta	Autor
Prednisolona	25	4	16	20	N.R.*	McCaw <i>et al.</i> , 1994
Vincristina	27	0	7	7	N.R.*	McCaw <i>et al.</i> , 1997
Lomustina	21	6	38	44	79 dias	Rassnick <i>et al.</i> , 1999
Prednisolona/Vimblastina	17	33	13	47	154 dias	Thamm <i>et al.</i> , 1999
Pred./Vinb./Ciclofosfamida	21	0	78	78	N.R.*	Elmslie, 1997
P./ V./ C./ Hidroxiureia	17	23	35	59	53 dias	Gerritsen <i>et al.</i> , 1998
Vimblastina/Lomustina	56	24	32	56	525 dias	Cooper <i>et al.</i> , 2009

*N.R.- Nada a registar

1.4.2. Inibidores da tirosina-cinase

As moléculas pequenas inibidoras da tirosina-cinase (TKIs) são inibidores competitivos que actuam bloqueando o local de ligação da molécula de ATP à cinase, de forma reversível ou irreversível. Na ausência de ATP, a cinase é incapaz de se fosforilar ou de iniciar a cascata de sinalização.

Os TKIs são facilmente sintetizados em grandes quantidades, estão disponíveis para administração oral e entram rapidamente nas células para aceder aos alvos pretendidos.

Estão bem estudados e de acção clinicamente comprovada em Medicina Humana, mas em Medicina Veterinária existem poucos ensaios clínicos realizados devido principalmente ao facto de os alvos da intervenção terapêutica não estarem ainda bem definidos para a maioria dos tumores de felinos e de canídeos, assim como o seu custo elevado, que torna a sua difusão mais difícil (London, 2009).

A aplicação dos TKIs ao tratamento do mastocitoma foi inicialmente descrita por Liao *et al.*, (2002) que demonstraram a capacidade destas moléculas para inibir a activação do c-kit e a proliferação de mastócitos neoplásicos.

1.4.2.1. Fosfato de Toceranib

O Fosfato de Toceranib é um potente inibidor dos receptores da família “split-cinase”, o que inclui o receptor para o factor de crescimento vascular endotelial 2 (VEGFR2), o receptor para o factor de crescimento derivado das plaquetas β (PDGFR β) e o receptor do c-kit. Possui actividade antitumoral e anti-angiogénica (London *et al.*, 2003). No estudo de London e colaboradores (2003), foram incluídas várias neoplasias como carcinomas, mastocitomas, melanomas e linfomas, entre outros, nas quais ocorrem também mutações no c-kit. De todos eles, o mastocitoma foi aquele em que se observou a maior taxa de sucesso quer na resposta completa, quer na resposta parcial (10/11 animais), nos casos de mastocitomas com mutações no c-kit. Nos casos de mastocitomas sem mutações no c-kit, obteve-se uma taxa de resposta de 30%, sugerindo que também estes podem beneficiar do uso do Fosfato de Toceranib. O efeito deste fármaco noutras neoplasias não está completamente esclarecido, mas pensa-se que a sua acção sobre os receptores do VEGF e do PDGF tem efeito anti-angiogénico, ajudando a causar a regressão tumoral em alguns casos.

Num estudo mais recente, a administração de Fosfato de Toceranib obteve uma taxa média de resposta de 42,8 %. Em cães com mutações no c-kit a taxa de resposta foi de 82% contra 54,5% nos animais sem mutações. Mostrou-se também que em animais sem metastização nos linfonodos a resposta biológica era maior: 67% versus 46% e, o grau da neoplasia não afectou a resposta ao tratamento (London *et al.*, 2009).

Está actualmente em estudo o uso de Toceranib com Prednisolona, para avaliar a eficácia e segurança deste protocolo em cães com mastocitoma e ainda a aplicação do Toceranib a hemangiossarcomas esplénicos.

1.4.2.2. Masitinib

Outro inibidor do c-kit é o Masitinib. Esta molécula tem como alvos específicos os receptores tirosina cinase do c-kit, como a isoforma nativa, as isoformas contendo mutações no domínio extracelular (exões 8 e 9) e no domínio justamembranar (exão 11), o receptor do factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR α e β), bem como as cinases intracelulares Lyn, Fyn e Lck, inibindo a sua fosforilação. Assim, exerce efeito inibidor nos mastócitos neoplásicos dependentes da sinalização do c-kit para a proliferação e sobrevivência (Monografia Masivet, 2009).

A inibição da actividade da cinase PDGFR resulta na suspensão do crescimento tumoral e apoptose:

- ✓ Se a cinase estiver constitutivamente activa;
- ✓ Aumentando a sensibilidade à quimioterapia e a biodisponibilidade no tumor;

- ✓ Reduzindo a angiogénese, não só em mastocitomas, mas também em alguns tumores espontâneos de canídeos (Thamm *et al.*, 2008).

A acção do Masitinib sobre a cinase Lyn tem como efeitos a prevenção da ocorrência de metástases e resistência aos quimioterápicos.

Num estudo de fase II realizado por Axiak e colaboradores (2006) em 13 cães com mastocitomas de grau II e III, obtiveram-se 30% de respostas à terapêutica. Mais tarde, num estudo de fase III, em 202 cães com mastocitomas de grau II e III, não metastáticos, a resposta ao tratamento com Masitinib não foi significativamente diferente à resposta obtida no grupo tratado com placebo (16% versus 15%, respectivamente). A maior diferença entre os dois grupos foi o aumento no tempo de progressão da doença, em que os doentes tratados com Masitinib estiveram em média 118 dias sem doença aparente, ao passo que os animais do grupo placebo manifestaram sinais após 75 dias (Hahn *et al.*, 2008 A). Numa publicação posterior, demonstrou-se que 24 meses após o início da terapêutica, 23,8% dos animais com mutações no c-kit, sujeitos a tratamento com Masitinib ainda não apresentava sinais de tumor, o que sugere que nestes casos o uso de Masitinib foi curativo.

No geral, a média de sobrevivência com Masitinib é de 498 dias, enquanto que nos animais tratados com placebo, a média é de 182 dias (Hahn, Kinet, Dubreuil, Moussyc, & Herminec, 2008 B).

Actualmente estão em estudo várias aplicações deste fármaco quer em afecções humanas, como tumores do estroma gastro-intestinal e carcinoma pancreático, quer em animais, sendo de destacar os estudos em melanoma, tumores mamários, sarcomas histiocíticos, tumores da bexiga, osteossarcoma, hemangiossarcoma, IBD, artrite, dermatite atópica e asma felina (Comunicação Masivet, Novembro 2009).

1.4.2.3. Mesilato de Imatinib

O Mesilato de Imatinib começou inicialmente por ser usado em Medicina Veterinária para tratamento de mastocitomas em canídeos. Contudo, devido à sua hepatotoxicidade, o seu uso tem muitas vezes de ser descontinuado. Num estudo recente realizado com 21 animais, 10 apresentaram resposta ao tratamento e, nos mastocitomas com ITDs no c-kit a resposta obtida foi de 100% (Isotani *et al.*, 2008). Neste estudo, nenhum animal apresentou hepatotoxicidade, facto que se deveu à interrupção do tratamento por alguns proprietários devido a razões monetárias. Noutro estudo, 3 de 11 animais sujeitos a terapêutica com Imatinib obtiveram respostas parciais ao tratamento (London , 2009).

Apesar de induzir hepatotoxicidade em cães, em gatos o Imatinib é bem tolerado. Quando administrado a gatos em doses entre 10-15mg/kg, esta molécula não induz toxicidade na medula óssea e a toxicidade gastrointestinal é moderada. O seu uso estende-se também ao

tratamento de outros tumores felinos, como por exemplo o sarcoma associado a vacinação (VAS).

Na Tabela 6 estão resumidos os principais estudos realizados com inibidores da tirosina-cinase.

Tabela 6 – Tratamentos com Inibidores da Tirosina-Cinase.

Quimioterápico	Dose		Taxa global de resposta (%)	Tempo médio Sobrevida	Autor
Toceranib	3,25 mg/kg, PO, diariamente, 6 semanas.	6	42,8%	> 6 semanas	(London <i>et al.</i> , 2009)
Masitinib	10-15mg/kg, PO, diariamente, 6 Meses.		16%	498 Dias	(Hahn <i>et al.</i> , 2008)
Imatinib	10mg/kg, PO, diariamente, 1-9 semanas.	1-9	50 %	Sem seguimento	(Isotani <i>et al.</i> , 2008)

1.4.3. Electroquimioterapia

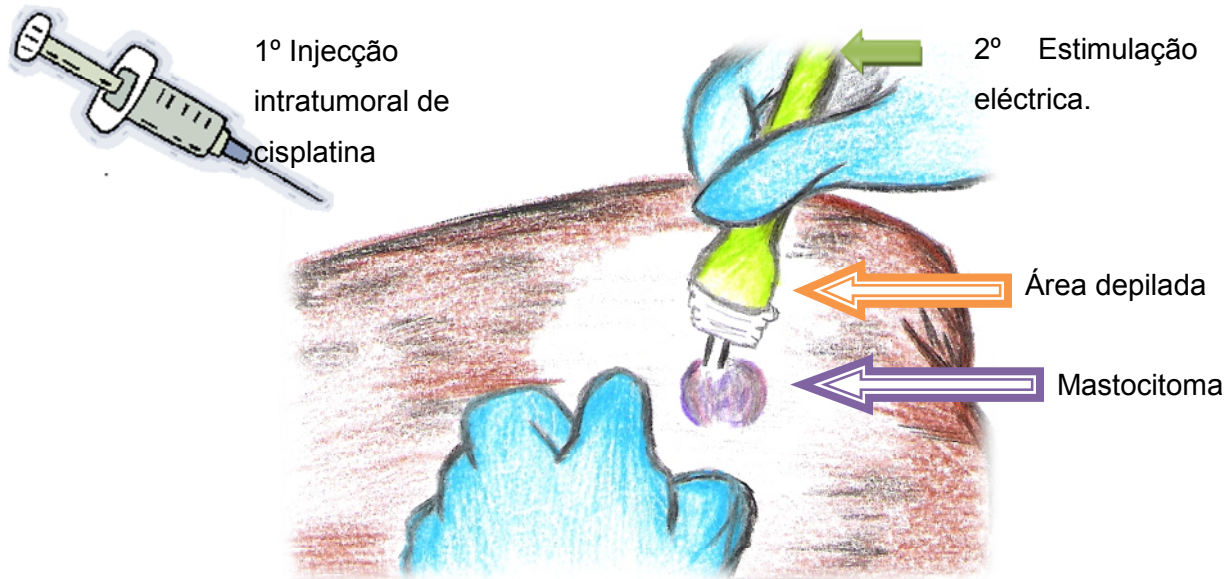
A electroquimioterapia é uma nova forma de tratamento local de tumores, que combina a administração sistémica de agentes terapêuticos como a Cisplatina e a Bleomicina, que possuem fraca ou nenhuma permeabilidade para a membrana celular, respectivamente e, a aplicação de impulsos eléctricos no tumor em tratamento para criar electropor-meabilização (Cemazar *et al.*, 2008). A Bleomicina quando é usada como fármaco único, por exemplo, não tem qualquer efeito antitumoral, devido à sua natureza altamente hidrofílica.

A técnica da electroquimioterapia é baseada na aplicação local de impulsos eléctricos, intensos mas de curta duração, nas células e tecidos, após aplicação intratumoral de Cisplatina, como fármaco único, na concentração de 1mg/m³. Os campos eléctricos aplicados induzem e/ou activam poros da membrana desestabilizando-a transitoriamente, tornando-a permeável à entrada de moléculas estranhas do espaço extra-celular para o citoplasma, além de reforçar a sua actividade citotóxica (Kodre, Cemazar, Pecar, Sersa, Cör, & Tozon, 2009). Permite portanto, que quimioterápicos exógenos possam entrar facilmente nas células. Este tratamento é estudado há cerca de 15 anos e tem dado provas de grande eficácia (80-85%) em vários tumores cutâneos e sub-cutâneos *in vivo* em doentes humanos. Tem sido usada de forma eficaz em estudos pré-clínicos e clínicos

independentemente do tipo histológico e da localização da neoplasia. Já está disponível em Portugal mas apenas para pacientes humanos, no IPO de Lisboa.

Em Medicina Veterinária, têm sido realizados vários estudos experimentais que comprovam a eficácia anti-tumoral desta técnica em diferentes modelos animais e diferentes tipos histológicos de tumor, como fibrossarcomas, tumores perianais, carcinoma mamário, melanoma em cães, gatos e cavalos. Num estudo recente em mastocitomas de canídeos, foi obtida uma taxa de resposta completa ao tratamento de 62,5%, 4 a 5 semanas após a aplicação do mesmo, sendo o tempo médio de seguimento de 26 meses, num intervalo de seguimento compreendido entre os 2 e os 43 meses (Kodre *et al.*, 2009).

Figura 13-Aplicação de electroquimioterapia em mastocitoma (original da autora, adaptado de Kodre *et al.*, 2009).



Ao permitir o uso de fármacos em doses mais baixas, este tratamento reduz os seus efeitos adversos, sendo por isso bem tolerado, seguro e minimamente invasivo para os pacientes, que na maioria dos casos requer uma única sessão de tratamento. Além disso a duração do controlo local é maior em comparação com a duração do mesmo, quando o tratamento é cirúrgico (Kodre *et al.*, 2009).

Os estudos realizados sobre a electroquimioterapia em mastocitomas caninos descrevem a existência de taxas de resposta de longa duração que atingem os 80%. Pode ser usada em tumores primários, em tumores recorrentes solitários ou múltiplos e em tumores subcutâneos de natureza diversa, como tratamento principal ou complementar, especialmente em tumores de grau II e grau III (Cemazar *et al.*, 2008).

Estudos em cães e gatos com sarcomas dos tecidos moles confirmaram as vantagens da electroquimioterapia em relação à cirurgia no que respeita ao controlo local do tumor e ao tempo de sobrevivência: em gatos, o tempo até à recorrência local é de 12-19 meses quanto

tratados com electroquimioterapia, ao passo que com tratamento cirúrgico o tempo até à recorrência é de 2 meses. Em cães o tempo até à recorrência local de sarcomas é de 730 dias, com uma resposta ao tratamento de 95% (Spugnini, Citro, D'Avinob, & Naldib, 2008).

Os mecanismos responsáveis pela efectividade deste tratamento são diversos. O principal é o aumento da entrega de quimioterápicos às células tumorais, por aumento da permeabilidade da membrana celular. Em segundo lugar, a aplicação de impulsos eléctricos interrompe o suprimento sanguíneo do tumor e, conseqüentemente, aumenta a retenção dos quimioterápicos no seu interior e por último, a estimulação do sistema imunitário. Estudos realizados em ratinhos imunodeficientes apontam para a necessidade de haver resposta imunitária, para se obter a cura (Kodre *et al.*, 2009).

A electroquimioterapia com cisplatina é bastante efectiva como tratamento único, pelo que constitui uma boa alternativa ao tratamento cirúrgico, especialmente em situações em que a opção cirúrgica é rejeitada pelos proprietários.

1.4.4. Radioterapia

A radioterapia começou a ser usada em Medicina Veterinária logo após a descoberta dos Raios-X por Roentgen em 1895. O seu uso para tratamento de tumores é muito eficaz, quer em pacientes humanos quer em animais (principalmente sarcomas dos tecidos moles e mastocitomas).

O seu uso para tratamento de mastocitomas é recomendado no período pós-operatório, nos casos em que os bordos cirúrgicos representem invasão por mastócitos neoplásicos na análise histopatológica ou em casos em que não seja possível extirpar o tumor cirurgicamente.

Pode também usar-se a radioterapia no período pré-operatório com o intuito de reduzir a dimensão do tumor permitindo assim a obtenção de margens mais seguras (LaRue & Gillette, 2007).

A radioterapia local fraccionada é largamente aceite como tratamento de mastocitomas de grau I e II incompletamente extirpados cirurgicamente que não podem ser sujeitos a uma segunda cirurgia. A maior vantagem deste tratamento é a possibilidade de se obterem maiores margens de segurança em relação à cirurgia. Se ambas forem utilizadas em conjunto, a probabilidade de se obter um controlo local efectivo, com menores possibilidades de recidivas, é maior. Num estudo realizado por Frimberger e colaboradores (1993), o tratamento de tumores de grau II com cirurgia e radioterapia, obteve uma taxa de controlo local superior a 90%, 1 e 2 anos após tratamento. LaDue e colaboradores (1998) obtiveram no seu estudo, intervalos livres de doença de 32,7 meses.

A radioterapia está também indicada em mastocitomas com metastização nos linfonodos regionais e na prevenção desta mesma situação. Chaffin (2002) analisou 19 mastocitomas

caninos, sujeitos a cirurgia, radioterapia no local de extirpação do tumor primário e linfonodo regional e medicados com prednisolona oral. Todos os cães do estudo apresentavam mastocitomas nas extremidades, proximal ou distal, com metástases nos linfonodos cervical superficial e poplíteo. A média do intervalo livre de doença obtida foi de 1240 dias, indicando que esta modalidade de tratamento, é bastante eficaz no controlo do mastocitoma mesmo em situações em que este metastiza nos linfonodos regionais (Mayer, 2006).

A irradiação profilática dos linfonodos regionais é controversa, mas alguns autores utilizam-na mesmo quando a citologia do linfonodo se apresenta negativa para a presença de mastócitos neoplásicos (Welle *et al.*, 2008).

O prognóstico favorável dos animais sujeitos a irradiação profilática dos linfonodos pode dever-se à alteração na modulação da resposta imunitária no microambiente do linfonodo, à erradicação da metástase incipiente e que está abaixo dos níveis de detecção citológica ou por interferência na colonização dos linfonodos por células tumorais (Thamm *et al.*, 2006).

A radioterapia é também eficaz em tumores de grau III, na ausência de metástases nos linfonodos regionais, como terapêutica adjuvante (Mayer, 2006), pois em casos em que já tenha ocorrido metastização o tempo de sobrevivência é menor. Na Tabela 7 estão resumidos os principais efeitos secundários agudos e tardios da radioterapia.

Tabela 7 – Efeitos secundários da radioterapia (adaptado de Cooper , 2008)

Local	Efeitos secundários agudos		Local	Efeitos secundários tardios	
Pele	Descamação	húmida, alopecia	Pele	Fibrose, feridas	contração, que não cicatrizam.
Cavidade oral	Mucosite, halitose		Cavidade oral	Periodontite, xerostomia, necrose óssea.	
Cavidade nasal	Mucosite, descarga nasal		Tecido nervoso	Enfarte, encefalopatia, mielopatia.	
Olhos	Conjuntivite,	úlceras córnea, uveíte	Olhos	Cataratas,	queratoconjuntivite seca, degeneração da retina.
Região cervical	Faringite,	esofagite, traqueíte	Região cervical	Hipotireoidismo, estenose esofágica.	
Região pélvica	Colite,	proctite, cistite, uretrite.	Tracto Gastro-Intestinal	Estenoses	
			Rins	Fibrose, perda de função.	

Pode usar-se a radioterapia como tratamento paliativo em tumores de grau II ou III, inoperáveis, em cães com metastização distante do mastocitoma primário ou em animais

com doenças concomitantes, mas com muita precaução, uma vez que a desgranulação dos mastócitos, induzida pelas radiações, pode conduzir a vômito, hipotensão e morte (Mayer, 2006; London, 2008). Reacções cutâneas como fibrose, por exemplo, impedem o seu uso em locais como a face e área perineal.

Em comparação com a quimioterapia, a radioterapia tem algumas desvantagens:

O acesso a este tratamento só é possível em alguns Centros Veterinários. Em Portugal, por exemplo, não existe nenhum Centro Veterinário que realize radioterapia em animais de companhia. Na Europa existem 5 centros onde este tratamento está disponível: 4 no Reino Unido e 1 na Suíça. É uma técnica cara que exige manipulação por pessoal especializado e, no caso dos tumores múltiplos, é trabalhosa e demorada (Hosoya *et al.*, 2009).

1.4.5. Terapêutica fotodinâmica

A terapêutica fotodinâmica consiste no uso de um fármaco com tropismo para as células neoplásicas, que se designa por agente fotossensibilizante e, de um tipo específico de luz. Quando os agentes fotossensibilizadores são expostos a um determinado comprimento de onda, produzem oxigénio livre e radicais livres que provocam a morte das células neoplásicas próximas.

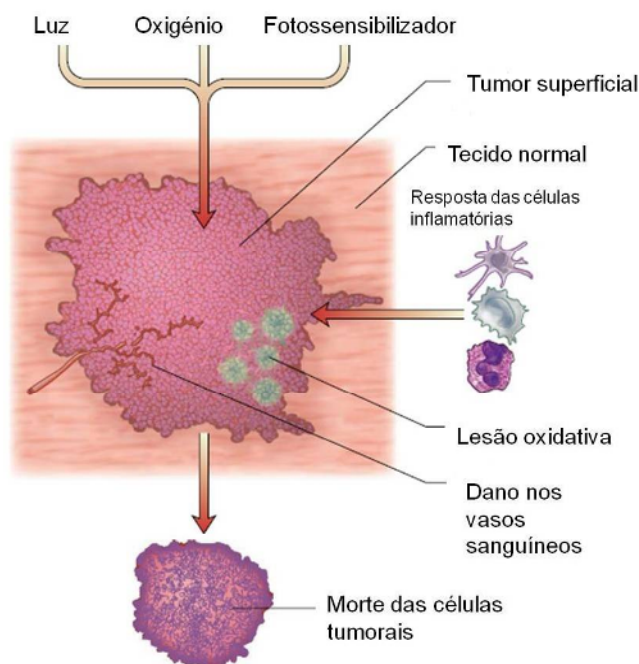
Cada fotossensibilizador é activado por um determinado comprimento de onda que determina quão longe pode penetrar a luz no corpo. As diferentes áreas corporais são tratadas com fotossensibilizadores e comprimentos de onda diferentes. Os fotossensibilizadores podem causar danos nos vasos sanguíneos dos tumores, que os impedem de receber os nutrientes necessários à sua sobrevivência e conduzem à diminuição da lesão tumoral. Outro dos seus efeitos é a estimulação do sistema imunitário de forma a aumentar o ataque às células tumorais (Rosenthal, 2004).

A fototerapia tem vantagens consideráveis: é necessário tratar o tumor apenas uma vez, ao contrário da radioterapia; No caso de o tumor recidivar, pode repetir-se; É mais seguro para os tecidos do que a radioterapia, uma vez que é possível redireccionar os cabos de fibra óptica para que apenas o tumor fique exposto à luz; Pode ser usada em tecidos normais com danos; É bem tolerada e não é tóxica; Não causa resistência cruzada com outros tratamentos, como a radioterapia ou a quimioterapia.

Os tumores mais pequenos respondem de forma mais eficaz à terapêutica fotodinâmica do que tumores de maiores dimensões. A cura dos tumores pode ser prejudicada se estiverem presentes infecções, recidivas do tumor primário ou feridas de cicatrização lenta (McCaw & Bryan, 2010).

Na Figura 14 está esquematizado o mecanismo de acção da terapêutica fotodinâmica.

Figura 14 - Mecanismo de acção da terapêutica fotodinâmica sobre as células tumorais (Adaptado de North & Banks, 2009).



Como principais desvantagens apresenta:

- ✓ Aplicabilidade limitada, pois só pode ser usada em tumores superficiais;
- ✓ Provoca fotossensibilidade cutânea transitória;
- ✓ Pode ser necessário repetir o tratamento, se não for bem aplicada;
- ✓ Ocorrem frequentemente reacções inflamatórias na área a tratar;
- ✓ Apenas está disponível num número limitado de Centros Veterinários (North & Banks, 2009).

1.4.6. Imunoterapia tumoral não específica – Modificadores da resposta biológica (BRM).

Os modificadores da resposta biológica são moléculas capazes de modificar as respostas celulares às mudanças no ambiente externo. Têm sido estudadas desde há vários anos na Medicina Veterinária, sendo definidos como agentes ou abordagens que modificam a resposta biológica do hospedeiro às células tumorais.

Um dos BRM estudado é o Bacilo de Calmette-Guérin (BCG), que é uma estirpe viva atenuada do *Mycobacterium bovis*.

O BCG tem sido usado para tratar sarcóides nos cavalos e carcinoma espinocelular ocular em Ovinos e também como tratamento adjuvante de cães com osteossarcoma, aumentando

o tempo médio de sobrevivência, em comparação com o tratamento “standard” destes tumores. Bostock estudou em 1974, a sua aplicabilidade a vários tipos de tumores em canídeos, como o carcinoma da bexiga, o osteossarcoma, o linfoma, o carcinoma prostático, o tumor venéreo transmissível, os tumores mamários, os sarcóides, o carcinoma espinocelular, entre outros (Bergman, 2009).

A gonadotrofina coriônica humana (hCG) foi também estudada como imunomodulador no tratamento de doenças inflamatórias e neoplásicas em pacientes humanos. A hCG é uma hormona glicoproteica produzida e segregada pelas células trofoblásticas da placenta durante a gravidez. A administração intralesional ou sistêmica de preparações contendo hCG induz regressão tumoral em pacientes humanos com Sarcoma de Kaposi. Os investigadores acreditam que este efeito antitumoral se deva ao efeito pró-apoptótico e antiangiogénico desta hormona (Henry *et al.*, 2007).

A eficácia e a segurança do LDI-100, um produto composto por BCG e hCG, foram avaliadas por Henry e colaboradores (2007) como forma de tratamento de cães com mastocitomas de grau II ou III em comparação com a administração de Vimblastina, em protocolo de fármaco único.

No tratamento com LDI-100, cada animal recebeu diariamente, ao longo de 6 semanas, 0,2 mL de LDI-100 administrado por via subcutânea, sendo que cada dose era composta por 27ng/mL de BCG e 2 UI de hCG. No grupo de animais tratados com Vimblastina, esta foi administrada por via endovenosa, uma vez por semana, durante 6 semanas. A taxa de resposta ao LDI-100 foi de 28,6% em comparação com 11,7% de resposta à Vimblastina. No grupo de animais tratados com Vimblastina, 22% dos animais apresentaram neutropénia ao contrário do grupo tratado com LDI-100, em que nenhum dos animais a apresentou. Deste estudo concluiu-se que a administração diária de LDI-100 é segura e possui actividade antitumoral comparável à da quimioterapia de agente único, realizada com Vinblastina (Henry *et al.*, 2007).

O LDI-100, além de apresentar menos efeitos secundários tem a vantagem de poder ser administrado por via subcutânea, em casa, sem necessidade de hospitalização dos animais. Tal como acontece com a Vimblastina, também o tratamento com LDI-100 pode ser mais eficaz, se for administrada prednisolona ao protocolo.

1.4.7. Instilação de água desionizada

A instilação de água desionizada no local do tumor primário, após excisão cirúrgica está descrita em alguns estudos. Contudo esta prática é muito controversa, pois enquanto alguns autores obtiveram taxas de recidiva inferiores em animais tratados com cirurgia e água desionizada em relação ao tratamento só com cirurgia (Grier, Di Guardo, Myers, & Merkley, 1995), outros mostraram que este procedimento tem pior prognóstico, com intervalos

menores até à recidiva, comparativamente a animais sujeitos apenas a cirurgia (Jaffe, Hosgood, Kerwin, Hedlund, & Taylor, 2000).

Num estudo recente, foi utilizada água destilada como solução hipotónica e Lactato de Ringer como placebo no grupo de controlo, por ser uma solução isotónica que se assemelha ao líquido intersticial (Brocks, Neyens, Teske, & Kirpensteijn, 2008). Obtiveram-se taxas de sobrevivência de 93,7% e 83,3% respectivamente, aos dois anos após tratamento e taxas livres de recorrências de 93,7% e 90,9% em cada grupo no mesmo período. Os tumores de grau II e III apresentaram pior prognóstico, o que levou os autores a concluir que o tratamento com solução hipotónica não diminui a taxa de recorrência ou não aumenta a taxa de sobrevivência após a remoção cirúrgica de mastocitomas solitários.

Em teoria, a solução hipotónica provoca lise dos mastócitos e as soluções isotónicas *in vitro* destroem 40-70% dos mastócitos mas na prática verificou-se que é o aumento temporário da pressão nos tecidos que provoca a destruição dos mastócitos, pois estas células são sensíveis a mudanças no ambiente onde vivem, sendo esta a explicação possível para os resultados semelhantes obtidos entre os 2 grupos (Brocks *et al.*, 2008).

1.4.8. O futuro: novas terapêuticas em estudo.

Estão actualmente em desenvolvimento novas terapêuticas para o tratamento de mastocitomas, que ainda necessitam de estudos mais elaborados para determinar a sua aplicabilidade e eficácia neste tumor:

Recentemente, Lin *et al.* (2008) desenvolveram um inibidor da “Heat Shock Protein 90” (HSP90), o STA-9090. As células tumorais necessitam da HSP90 para manterem a expressão apropriada das proteínas necessárias à sua sobrevivência e proliferação (Lin *et al.*, 2008). O STA-9090 mostrou actividade contra linhas celulares de mastócitos neoplásicos *ex vivo* e inibição do crescimento tumoral *in vivo*, ao inibir a proliferação celular e causar a perda de viabilidade de células BMCMCs. É efectivo contra células kit-dependentes e kit-independentes, mostrando assim um largo espectro de actividade terapêutica anti-neoplásica.

O uso de retinóides em culturas celulares de mastócitos foi também testado para determinar se estes exercem efeito inibidor sobre os mastócitos caninos neoplásicos e o estudo recente publicado por Pinnello *et al.* (2009) demonstrou que o tratamento *in vitro* com ATRA (ácido retinóico *all-trans*) inibe o crescimento quando são adicionados às células progenitoras dos mastócitos. Os autores acreditam que os ATRA sejam uma esperança na melhoria do prognóstico destes tumores (Pinnello *et al.*, 2009).

A administração intra-tumoral de 5-fluorouracil, um antagonista pirimidínico do grupo dos antimetabolitos que actua alterando a síntese do ADN, em associação com

corticoesteróides, resultou em diminuição do tamanho dos mastocitomas e necrose das células tumorais em 4 dos 6 casos em que foi aplicado (Kelly & Belding, 2010).

Por último, o AR-42, é um inibidor da histona-desacetilase, que promove a inibição da transcrição do Kit, perda de função da HSP-90 (*Heat shock protein – 90*) e exibe actividade *in vivo* e *ex vivo* contra linhas medulares de mastócitos neoplásicos (Lin *et al.*, 2010)

1.4.9. Tratamento complementar

Os animais com mastocitomas primários volumosos, doença metastática ou sinais sistémicos devem ser tratados com medicação que bloqueie alguns ou todos os efeitos da libertação de histamina nomeadamente:

1. Antagonistas dos receptores H2: uma vez que os elevados níveis de histamina podem estimular as células parietais a produzirem excessivamente ácido clorídrico, os mastocitomas podem conduzir a úlcera e eventual perfuração gastrointestinal. Assim, podem administrar-se fármacos antagonistas dos receptores H2 como Cimetidina (4 mg/kg PO, TID), Ranitidina (2 mg/kg PO BID) ou Famotidina (0,5-1 mg/Kg, PO ou EV BID ou SID) (London & Seguin, 2003; Johnson, Sherding, & Bright, 2006). Como alternativa, podem também administrar-se inibidores da bomba de prótons, como Omeprazole (0.5 –1 mg/kg PO SID), que pode ser mais benéfico na prevenção da ulceração gástrica pois é mais potente que a Cimetidina e tem longa duração de acção (North & Banks, 2009) .
2. Antagonistas dos receptores H1: a desgranulação maciça de mastócitos pode conduzir à ocorrência de choque hipotensivo e morte. Assim, animais com mastocitomas volumosos, devem iniciar terapêutica com Antagonistas dos receptores H1 como a Difenidramina (London, 2010). A administração da Difenidramida (1-2 mg/kg, SC) 30 a 60 minutos antes da realização de qualquer procedimento, como por exemplo, a PAAF, ajuda a minimizar o efeito da desgranulação dos mastócitos durante ou após a colheita de material.

No caso de existirem sinais de ulceração gástrica e hemorragia, deve administrar-se sucralfato (0.5–1.0 g PO TID) e ocasionalmente Misoprostol (3 µg/kg PO TID). O Misoprostol é um análogo sintético da prostaglandina, que em baixa dose (3 – 5 µg/kg) tem função citoprotectora e em doses altas (10 µg/kg), tem actividade anti-secretória (Johnson *et al.*, 2006).

A Loperamida que pode ser administrada juntamente com o Toceranib caso de ocorrerem episódios de diarreia.

As náuseas e o vômito podem controlar-se com Metoclopramida (0.1-0.4 mg/kg PO, SC ou IM, TID ou QID), Citrato de maropitante (1.0. mg/kg, SC, q24h, 5 dias no máximo) e /ou Ondasetron (0.1-1.0 mg/kg PO ou SID ou BID) (North & Banks, 2009).

O mastocitoma pode ser doloroso aquando da desgranulação dos mastócitos ou no caso de haver inflamação peri-tumoral (De Lorimier & Fan, 2010). Nessas alturas deve fazer-se terapêutica analgésica com anti-inflamatórios não esteróides ou opióides.

2. Estudo Retrospectivo

2.1. Objectivos

Este estudo teve como objectivo caracterizar os casos de canídeos com diagnóstico de mastocitoma, cujo tecido foi sujeito a análise histopatológica no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa. Pretende-se investigar a distribuição dos casos por sexo, idade, raça dos animais incluídos no estudo, e, com base na informação das fichas clínicas e relatórios das amostras examinadas por análise histopatológica, caracterizar os mastocitomas no que diz respeito aos aspectos clínicos de localização, tamanho, presença de ulceração, história prévia de patologia cutânea e estudar a associação destas variáveis com o grau histológico, a recidiva e a metastização.

2.2. Material e métodos

Este estudo compreendeu duas fases: (i) Na primeira fase foi realizado o levantamento da casuística de mastocitomas, no período entre 01/01/2005 até 30/06/2010, dos arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Técnica de Lisboa.

Foram avaliados retrospectivamente todos os relatórios de histopatologia com este diagnóstico. O material utilizado proveio de animais sujeitos a extirpação cirúrgica ou biópsia excisional das massas tumorais.

Construiu-se uma base de dados onde constavam todos os dados disponibilizados pelos formulários de análise, tais como número e ano da análise, nome do dono, nome do animal, raça, idade, sexo, localização do tumor, tamanho e grau histológico.

(ii) Na segunda fase estudaram-se as fichas clínicas dos animais atendidos na FMV e nas clínicas “Azevet”, “Benavet”, “Clínica João XXI” e da “Liga Portuguesa dos Direitos dos Animais”, de onde proveio o material extirpado, através de contacto telefónico e presencialmente, para determinar a existência de história prévia de patologia cutânea, com sinais clínicos como eritema, alopecia, dermatite ou atopia, ulceração dos tumores, presença de síndromes paraneoplásicas, as percentagens de recidiva, metastização e as formas de tratamento.

Análise estatística

Os dados foram processados com o software Microsoft® Excel 2007 e PASW 18 (Predictive Analytics SoftWare-IBM®). No Quadro 1 estão enumeradas as variáveis analisadas no estudo com as respectivas categorias e unidades. A análise estatística dos dados utilizou métodos descritivos univariados para o cálculo da distribuição de frequências e de medidas de síntese (moda, mediana, média ± desvio-padrão) utilizadas para a caracterizar a amostra estudada. Foram utilizados os testes de qui-quadrado de Pearson e o teste exacto de Fisher para investigar associações entre as diferentes variáveis categóricas. Todos os testes estatísticos foram realizados com base no nível de significância de 5%.

Quadro 1 - Variáveis epidemiológicas, clínicas e histológicas utilizadas no estudo.

Variável	Categoria
Localização	Abdômen
	Cabeça/Pescoço
	Dorso
	Flanco
	Cutânea Inespecífica /Disseminado
	Inguinal/perineal
	Membros
	Tórax
Grau Histológico	I
	II
	III
Sexo	Fêmeas (inteira, castrada ou desconhecida)
	Machos (inteiro, castrado ou desconhecido)
Raça	Boxer
	Golden Retriever
	Labrador Retriever
	S.R.D.
	Outros
Idade	Anos
História de Patologia cutânea	Sim
	Não
	Não se sabe
Ulceração	Sim
	Não
Recidiva	Sim
	Não
Metastização	Sem seguimento
	Sim
	Não
	Sem seguimento
Tamanho	Centímetros

2.3. Resultados

O diagnóstico de mastocitoma foi confirmado por histopatologia em 308 amostras sujeitas a extirpação cirúrgica. Das 308 peças enviadas ao Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária, 9 pertenciam aos mesmos animais - recidivas do tumor primário, pelo que foram analisadas 299 amostras, cada uma correspondendo a apenas 1 animal.

Em 28 (9,36%) dos animais identificou-se mais do que um nódulo formado por mastócitos neoplásicos, cuja análise foi feita separadamente dos tumores solitários.

Dado o carácter retrospectivo deste estudo, não foi possível apurar o tempo de evolução das lesões na maioria dos animais, mas pôde-se determinar, nos casos em que se obteve essa informação, um intervalo que variou das 3 semanas até aos 2 anos após desenvolvimento.

1ª Fase - Frequência dos mastocitomas solitários e múltiplos.

2.3.1. Distribuição da frequência dos tumores solitários.

2.3.1.1. Sexo

Nas 299 amostras identificaram-se 271 (90,64%) animais com nódulos solitários, sendo 155 (57,20%) machos e 116 (42,80%) fêmeas (Tabela 8). No grupo dos machos, 13 (5,15%) eram castrados e 134 (49,45%) inteiros; no grupo das fêmeas 30 (11,03%) estavam castradas, ao passo que 79 (29,41%) eram fêmeas inteiras. Os dados revelaram que existe relação estatística significativa entre o sexo e a ocorrência de mastocitomas solitários ($p<0,001$). De notar que em 15 (5,47%) dos animais não foi possível determinar se estavam castrados ou se eram inteiros. Os dados evidenciaram diferença significativa entre as proporções de animais afectados relativamente à condição de inteiro ou castrado (Teste bilateral de qui-quadrado de Pearson (χ^2) = 15,63, com 1 g.l. e $p <0,001$). Os casos “desconhecidos” não foram considerados para o cálculo.

Tabela 8 - Número de mastocitomas solitários por Sexo.

Sexo	Castrado			Total
	Sim	Não	Desconhecido	
Fêmeas	30	79	7	116
Machos	13	134	8	155
Total	43	213	15	271

2.3.1.2. Idade

Dos 271 animais com nódulos solitários, não foi possível determinar a idade de 11 (4,1%) porque as requisições de histopatologia omitiam esta informação. O intervalo de idades da amostra variou entre os 11 meses e os 18 anos. A média de idades foi de $8,1 \pm 2,97$ anos, com mediana de 8 anos. Nas fêmeas a média de idades foi de $8,3 \pm 3,1$ anos e nos machos a média de idades foi $7,9 \pm 2,9$ anos, como se pode verificar na Tabela 9.

Tabela 9 – Idade dos canídeos com mastocitoma solitário consoante o sexo (N=260).

Sexo	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Total
Fêmeas	8,3	8	3,1	0,90	17	111
Machos	7,9	8	2,9	1,50	18	149
Total	8,1	8	2,97	0,90	18	260

Na Tabela 10 pode perceber-se que à excepção do intervalo compreendido entre os 3 e os 9 anos, a prevalência do tumor distribuiu-se igualmente em machos e fêmeas. De entre os 260 animais cuja idade era conhecida, 3 (1,15%) tinham menos de 3 anos, 53 (20,38%) apresentavam idades compreendidas entre os 3 e 6 anos, 95 (36,54%) tinham entre 6 a 9 anos, 73 (28,08%) entre 9 e 12 anos e 36 (13,85%) apresentaram-se com idade superior a 12 anos. Os dados não evidenciaram existência de associação entre a idade e o sexo ($\chi^2 = 5,17$, com 5 g.l. e $p=0,410$).

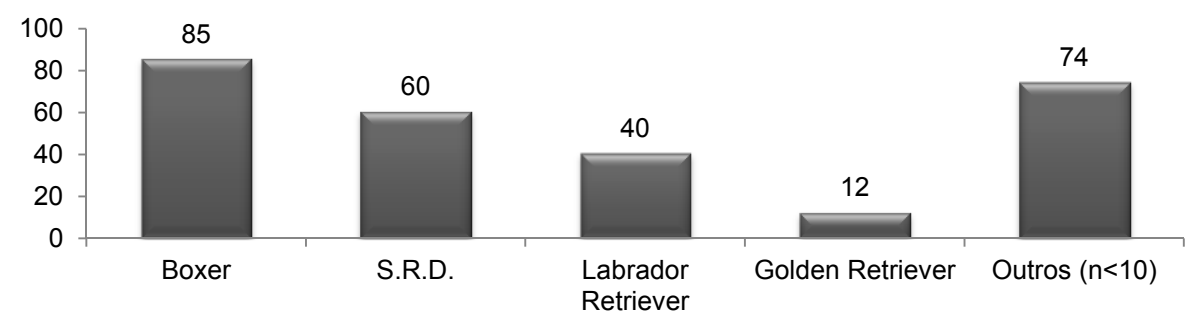
Tabela 10 – Distribuição dos mastocitomas solitários por intervalos de idade consoante o sexo dos animais.

Sexo	Idade							Total
	[0-3[[3-6 [[6-9[[9-12[[12-15[>15	Indeterminada	
Fêmeas	1	23	33	37	14	3	5	116
Machos	2	30	62	36	17	2	6	155
Total	3	53	95	73	31	5	11	271

2.3.1.3. Raça

Dentro das raças com maior casuística, destaca-se a raça Boxer, com 85 (32%) casos, seguida pelos Labrador Retriever com 40 (15%) e Golden Retriever com 12 (4%). Os animais sem Raça Definida, representada na sua maioria por animais cruzados de Labrador Retriever, Boxer e Podengo Português apresentaram 60 (22%) casos. No Gráfico 3 pode observar-se que os animais de raça pura são mais afectados por esta neoplasia (78% dos casos) do que os animais sem raça determinada (SRD).

Gráfico 3- Raças acometidas por mastocitomas solitários (N=271).



Na Tabela 11 pode observar-se que a distribuição dos mastocitomas não é uniforme consoante a raça dos animais. Os Boxer, por exemplo, desenvolveram a maioria das lesões entre os 6 e os 9 anos ao passo que os animais S.R.D. tiveram uma frequência de tumores maior entre os 9 e os 15 anos.

Tabela 11 - Distribuição dos mastocitomas solitários consoante a raça e os intervalos de idade.

Raça	Idade							Total
	[0-3[[3-6 [[6-9[[9-12[[12-15[>15	Indeterminada	
Boxer	1	20	41	17	2	0	4	85
S.R.D.	2	9	10	17	16	3	3	60
Labrador Retriever	0	9	15	15	1	0	0	40
Golden Retriever	0	2	7	3	0	0	0	12
Outras	0	13	22	21	12	2	4	74
Total	3	53	95	73	31	5	11	271

2.3.1.4. Localização

Não foi possível determinar a proveniência anatômica de 4,8% (13/271) das peças histológicas, dado que chegaram ao Laboratório identificadas como “cutâneas”, tendo-lhes sido atribuída a designação de localização “cutânea desconhecida”.

No que diz respeito à localização dos nódulos, pode observar-se na Tabela 12 que a maior parte dos nódulos se localizava nos membros (n=81, 29,9% dos casos), seguido das regiões inguinal/perineal (n=55, 20,3%), tórax (n=42, 15,5%), abdómen e flancos (n=34, 12,6%), cabeça e pescoço (n=27, 10,0%) e dorso (n=17, 6,27%).

Apenas 2 animais apresentaram mastocitoma visceral (0,7% dos casos).

Tabela 12 - Distribuição dos mastocitomas solitários consoante o sexo e a localização dos nódulos (N=271).

Localização	Sexo		Total
	Fêmeas	Machos	
Abdominal	17	6	23
Cabeça/ Pescoço	11	16	27
Dorso	9	8	17
Flanco	6	5	11
Cutâneo Desconhecido	9	4	13
Inguinal/ Perineal	8	47	55
Membros	37	44	81
Tórax	17	25	42
Visceral	2	0	2
Total	116	155	271

Na Tabela 12 pode ainda observar-se que as fêmeas manifestaram uma prevalência superior, em relação aos machos, de nódulos no dorso (9 versus 8) e no abdómen (17 versus 6) e que os 2 únicos mastocitomas encontrados com origem visceral pertenciam ao sexo feminino. Por seu turno, os machos apresentaram maior número de nódulos nos membros, tórax, cabeça/pescoço e principalmente na região perineal/inguinal. Nesta região, há também um claro predomínio do desenvolvimento de tumores na genitália externa dos machos (n=47), principalmente na zona do escroto (n=35, 63,6%). Nesta região observaram-se ainda 6 nódulos (10,9%) no prepúcio, 5 nódulos (9,1%) na zona inguinal e 5 nódulos na zona peri-anal (9,1%) enquanto a vulva apresentou apenas 4 (7,3%) nódulos. Quanto à região da cabeça/pescoço, constatou-se que dos 27 mastocitomas desta região, 11 (40,7%) tiveram origem no pescoço, 4 (14,8%) na face e 4 nos lábios (14,8%), 4 nas orelhas (14,8%), tendo surgido com menor frequência tumores nas transições muco-cutâneas e pálpebras, os quais foram os locais onde de desenvolveram apenas 2 (7,4%) casos, respectivamente. Estes resultados evidenciam que a localização dos tumores não é

independente do sexo ($\chi^2 = 32,55$, com 7 g.l. e $p < 0,001$). Os mastocitomas com localização visceral não foram considerados no cálculo.

2.3.1.5. Grau

De acordo com a Tabela 13, os tumores representados na amostra apresentaram uma maior frequência de nódulos de grau II ($n=122$, 45,02%), enquanto os tumores de grau I e III apresentaram frequências semelhantes ($n=74$, 27,31% e $n=73$, 26,94%, respectivamente). Das 271 amostras analisadas neste estudo não se conseguiu avaliar correctamente o grau de duas.

Tabela 13 – Distribuição dos mastocitomas solitários por grau e sexo. (N=271).

Sexo	Grau				Total
	I	II	III	Indeterminado	
Fêmeas	30	56	29	1	116
Machos	44	66	44	1	155
Total	74	122	73	2	271

Não foi encontrada evidência de associação ($\chi^2 = 0,92$, com 2 g.l. e $p=0,633$) entre sexo e grau dos tumores. Na Tabela 14 analisou-se a relação entre a idade dos animais e a gradação dos nódulos tumorais e pôde verificar-se que os animais mais velhos apresentaram maior número de nódulos de grau II e III.

Tabela 14 – Distribuição da idade consoante o grau dos mastocitomas solitários.

Idade	Grau				Total
	I	II	III	Indeterminado	
[0-3[2	1	0	0	3
[3-6 [15	28	10	0	53
[6-9[28	38	28	1	95
[9-12[20	33	19	1	73
[12-15[6	13	12	0	31
>15	0	3	2	0	5
Indeterminada	3	6	2	0	11
Total	74	122	73	2	271

Na Tabela 15 observa-se que na maioria das localizações, predominam os tumores de graus I e II ($n=74$ e $n=122$, respectivamente), à excepção das lesões localizadas nos

membros (n= 36 do grau II e n=27 do grau III) e na região inguinal/ perineal (n=25 do grau II e n=18 do grau III), que foram mais afectadas por tumores de grau II e III.

Os dados revelaram associação entre estas variáveis, ($\chi^2 = 25,25$, 14 g.l., $p=0,032$). Os tumores de grau indeterminado e os tumores de localização visceral, não foram incluídos no cálculo.

Tabela 15 – Distribuição dos nódulos consoante o grau e a localização anatómica.

LOCALIZAÇÃO	Grau				Total
	I	II	III	Indt.	
Abdominal	12	11	0	0	23
Cabeça	4	9	3	0	16
Dorso	7	5	5	0	17
Flanco	3	6	2	0	11
Cutâneo Desconhecido	4	3	6	0	13
Inguinal/ Perineal	12	25	18	0	55
Membros	16	36	27	2	81
Pescoço	3	4	4	0	11
Tórax	13	23	6	0	42
Visceral	0	0	2	0	2
Total	74	122	73	2	271

Na região inguinal/ perineal, o escroto foi a zona mais afectada por tumores de maior malignidade, com 17 nódulos de grau II (68% dos tumores desta região com grau histológico II) e 13 nódulos de grau III (67% dos tumores desta região com grau histológico III) como se pode observar na Tabela 16. Não foi encontrada associação entre os mastocitomas desta região e o grau, (Teste exacto de Fischer = 4,34, 6 g.l., $p=0,643$). A localização “vulva” não foi considerada para este cálculo.

Tabela 16 - Relação entre o grau e a localização dos mastocitomas da região inguinal/perineal (N=55).

Localização	Grau			Total
	I	II	III	
Escroto	5	17	13	35
Prepúcio	1	3	2	6
Vulva	2	2	0	4
Inguinal	2	1	2	5
Peri-anal	2	2	1	5
Total	12	25	18	55

2.3.1.6. Tamanho

Relativamente à dimensão dos tumores, foram obtidos dados para o tamanho de apenas 164 amostras.

Na Tabela 17 podemos observar que 39% (n=64) dos tumores tinham dimensões menores que 2 centímetros, 37,8% (n=62) tinham entre 2 e 4 centímetros e apenas 23,2% (n=38) dos tumores da amostra apresentaram mais de 4 centímetros.

Tabela 17 - Frequências absolutas e relativas da dimensão dos tumores da amostra (N=164).

Tamanho	Frequência	%
<2 cm	64	39,0
[2-4 cm]	62	37,8
>4cm	38	23,2
Total	164	100,0

A distribuição em função da dimensão dos tumores e a raça é apresentada na Tabela 18, onde podemos observar que os animais de Raça Boxer (n=28) e os Sem Raça Definida (n=14) apresentam em média tumores de menor tamanho. No caso nos cães da raça Labrador Retriever (n=10) a maioria dos tumores têm tamanhos compreendidos entre 2 e os 4 centímetros, bem como um tamanho médio (3,71 cm) superior aos de outras raças. No entanto, não se encontrou associação estatisticamente significativa entre a raça dos animais e o tamanho tumoral (Teste exacto de Fischer = 7,12, 8 g.l., p=0,523).

Tabela 18 - Distribuição da raça em função da dimensão dos tumores (N=164).

Raça	Tamanho			Média	D.P.	Total
	<2 cm	[2-4 cm]	>4cm			
Boxer	28	22	8	2,55	2,03	58
S.R.D.	14	11	12	3,50	2,77	37
Labrador Retriever	7	10	6	3,71	3,01	23
Golden Retriever	2	3	2	3,66	2,97	7
Outras	14	15	10	2,88	1,96	39
Total	65	61	38	3,05	2,41	164

A distribuição dos tumores segundo o tamanho e a localização das lesões está resumida na Tabela 19. Pode observar-se que a maioria (n=129, 78,66%) das lesões tinha tamanho igual ou inferior a 4 centímetros e apenas 35 (21,34%) dos 164 tumores apresentavam tamanho superior a 4 centímetros. Os tumores com tamanho médio maior foram os localizados no tórax (3,61cm± 2,67cm), dorso (3,60cm± 2,53cm) e membros (3,30cm± 2,56cm). Não se encontrou evidência de associação entre a localização dos tumores e o tamanho dos nódulos (Teste exacto de Fischer = 12,13, 14 g.l., p=0,629).

Tabela 19 – Distribuição do tamanho pela localização dos nódulos (N=164).

Localização	Tamanho			Média	D.P.	Total
	<2cm	[2-4 cm]	>4cm			
Abdominal	6	4	1	2,09	1,39	11
Cabeça/Pescoço	8	4	3	2,78	3,22	15
Dorso	4	2	4	3,60	2,53	10
Flanco	4	3	1	2,13	1,36	8
Cutâneo Desconhecido	5	4	2	2,84	2,20	11
Inguinal/ Perineal	11	17	5	2,87	2,03	33
Membros	20	16	15	3,30	2,56	51
Tórax	6	11	7	3,61	2,67	24
Visceral	1	0	0	1,50		1
Total	65	61	38	3,05	2,41	164

Na Tabela 20 analisou-se a relação entre o tamanho tumoral e o grau histológico dos tumores. Nesta tabela pode constatar-se que os tumores com maiores dimensões (tamanho superior a 4 centímetros) eram preponderantemente os de grau III. Os dados avaliados mostraram que existe associação estatística entre o tamanho e o grau dos mastocitomas encontrados na amostra ($\chi^2 = 19,46$, 4 g.l., $p=0,001$).

Tabela 20 – Distribuição do Tamanho tumoral *versus* grau histológico dos mastocitomas solitários (N=164).

Tamanho	Grau			Total
	I	II	III	
<2 Cm	27	25	13	65
[2-4 cm]	14	29	18	61
>4 Cm	3	16	19	38
Total	44	70	50	164

Na Tabela 21 analisou-se a frequência da graduação histológica e a sua relação com a raça dos animais. Pode observar-se que na maioria das raças puras, predominaram os tumores bem a moderadamente diferenciados, grau I e II. As raças que apresentaram maiores frequências de tumores indiferenciados foram o Bulldog, Caniche, Cocker Spaniel, Pastor Alemão, Podengo Português, Serra da Estrela, Teckel e Yorkshire Terrier. Contudo, estas raças representaram-se por menos de 5 exemplares. Os dados avaliados não revelaram associação estatística entre a raça e o grau dos mastocitomas encontrados na amostra ($\chi^2 = 8,32$, 8 g.l., $p=0,402$). Para este cálculo a variável “raça” foi dividida em 5 categorias e os tumores cujo grau não estava bem definido foram excluídos.

Tabela 21 - Graduação dos mastocitomas solitários por raça.

Raça	N Grau I	N Grau II	N Grau III	N total
Boxer	31	35	19	85
Sem Raça Definida	13	28	19	60
Labrador	10	17	13	40
Golden Retriever*	4	6	1	12
PitBull	2	4	3	9
Husky	3	2	1	6
Cocker Spaniel	0	3	2	5
Pastor Alemão	1	2	2	5
Yorkshire	0	3	2	5
Caniche	1	1	2	4
Cão d'água Português*	2	0	1	4
Shar-Pei	1	2	1	4
Basset Hound	1	2	0	3
Rottweiler	0	2	1	3
Teckel	0	1	2	3
Bulldog	0	1	1	2
Épagneul Breton	1	1	0	2
Fox terrier	1	1	0	2
Podengo	1	0	1	2
Rafeiro Alentejano	0	2	0	2
Bichon Maltês	1	0	0	1
Cão de Fila Brasileiro	0	1	0	1
Dobermann Pincher	0	1	0	1
Dogue argentino	0	1	0	1
Fila São Miguel	0	1	0	1
Leão da Rodésia	0	1	0	1
Mastin	0	1	0	1
Pequinois	1	0	0	1
Serra da Estrela	0	0	2	2
Shiba-Inu	0	1	0	1
ShiTzu	0	1	0	1
Springer Spaniel	0	1	0	1
Weimaraner	1	0	0	1
Total	74	121	72	269

* Raça cujo grau de 1 dos nódulos não ficou claramente esclarecido.

2.3.2. Mastocitoma múltiplo.

Da amostra inicial de 299 animais, apenas 28 (9,36%) apresentavam mais do que um nódulo neoplásico.

2.3.2.1. Sexo

Na Tabela 22 pode observar-se a distribuição, por sexo, dos animais com mastocitomas múltiplos. Dos 28 animais da amostra, 15 (53,57%) eram do sexo masculino e 13 do sexo feminino (46,43%). Todos os machos da amostra eram inteiros na altura do diagnóstico, já 6 fêmeas (46,15%) eram castradas aquando do diagnóstico e extirpação das lesões.

Tabela 22 – Distribuição da ocorrência de mastocitoma múltiplo por sexo.

Sexo	Castrado			Total
	Sim	Não	Desconhecido	
Fêmeas	6	7	0	13
Machos	0	15	0	15
Total	6	22	0	28

2.3.2.2. Idade

Os animais com mastocitomas múltiplos apresentaram uma idade média de $9,16 \pm 3,01$ anos e mediana de 9 anos, com um mínimo de 4 anos e um máximo de 15 anos. Na Tabela 23 estão apresentadas as médias de idades dos animais nesta amostra, consoante o sexo. Verificou-se que as fêmeas tinham uma idade média superior em relação aos machos – $9,69 \pm 3,09$ anos e $8,70 \pm 2,96$ anos, respectivamente.

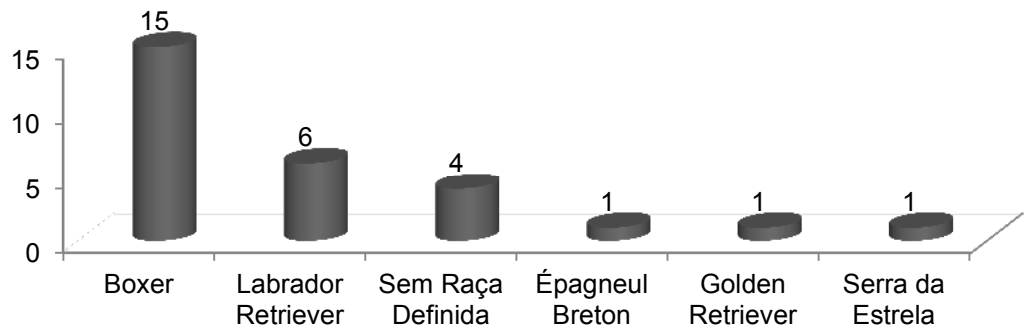
Tabela 23 - Distribuição da média de idades e sexo dos animais.

Sexo	N	Média	Desvio-padrão	Mediana
Fêmeas	13	9,69	3,09	10
Machos	15	8,70	2,96	9

O número mínimo de nódulos encontrados no mesmo animal foi 2, sendo o máximo descrito de 4. No entanto 9,8% dos animais exibiram várias formações cujo número não foi discriminado, sendo por isso classificados como “disseminados”.

2.3.2.3. Raça

Gráfico 4 - Distribuição dos mastocitomas múltiplos por raça (N=28).



No Gráfico 4 podemos observar a distribuição dos mastocitomas múltiplos pelas raças. Os Boxer aparecem mais uma vez como a raça com maior frequência de tumores múltiplos (n=15, 53,57%), seguidos pelos Labrador Retriever (n=6, 21,43%) e pelos animais S.R.D. (n=4, 14,29%).

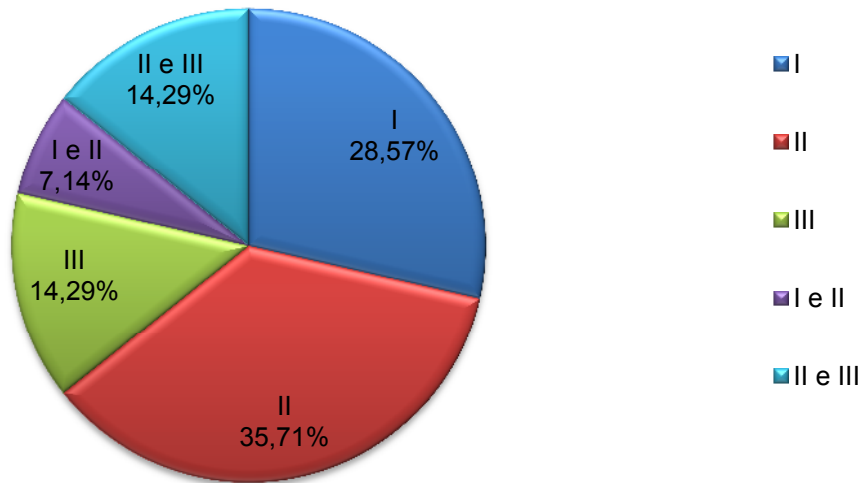
Na Tabela 24 observa-se que na forma múltipla os membros foram as regiões mais afectadas pelos mastocitomas, com uma frequência de 41% (n=21), sendo que a 2ª localização mais afectada foi a da cabeça/pescoço com 11,76% (n=6) dos casos.

Tabela 24 - Frequência de nódulos múltiplos consoante a localização.

Localização	Múltiplos	
	N=51	Frequência%
Membros	21	41,18%
Cabeça/Pescoço	6	11,76%
Perineal/Inguinal	5	9,80%
Tórax	5	9,80%
Abdómen/Flanco	5	9,80%
Cutâneo Disseminado	5	9,80%
Dorso	4	7,84%

2.3.2.4. Grau

Gráfico 5 - Distribuição dos mastocitomas múltiplos por grau (N=28).



Os tumores múltiplos encontrados nesta amostra eram maioritariamente de grau II (n=10, 35,71%), seguidos pelos mastocitomas de grau I (n=8, 28,57%), grau III (n=4, 14,3%) e, grau II e III (n=4, 14,3%). Menos frequentes foram os mastocitomas classificados com grau I e II (n=2, 7,1%), como se pode verificar no Gráfico 5.

Pela análise deste gráfico pode perceber-se também que os tumores múltiplos apresentam um maior número de casos de tumores malignos, uma vez que os tumores mais frequentes foram os de grau II e III (64,29%).

Na Tabela 25 pode observar-se a distribuição dos animais afectados por mastocitomas múltiplos consoante o grau tumoral e a idade dos animais. Os tumores múltiplos incidiram com maior frequência em animais com idades compreendidas entre os 6 e os 12 anos de idade. Os animais com idades compreendidas entre os 4 e os 12 anos têm na sua maioria, tumores de grau I e II, ao contrário dos animais mais velhos, com idades compreendidas entre os 12 e os 15 anos, que são mais afectados por tumores de grau II e III.

Tabela 25 - Associação entre a idade e o grau histológico dos animais com mastocitoma múltiplo (N=28).

Idade	Grau					Total
	I	II	III	I e II	II e III	
[3-6 [1	0	1	1	0	3
[6-9[3	5	1	0	1	10
[9-12[3	4	1	1	1	10
[12-15[1	1	1	0	2	5
Total	8	10	4	2	4	28

Na Tabela 26 pode observar-se a distribuição do grau consoante o sexo dos animais da amostra. Os dados da distribuição evidenciaram uma maior frequência de tumores de grau II (10/28, 35,71%), seguidos dos tumores de grau I (8/28, 28,57%). Os tumores de grau combinado, I e II foram os menos frequentes.

Tabela 26 - Distribuição do grau dos mastocitomas por sexo.

Sexo	Grau					Total
	I	II	III	I e II	II e III	
Feminino	4	5	2	0	2	13
Masculino	4	5	2	2	2	15
Total	8	10	4	2	4	28

Na Tabela 27 verifica-se que nos animais de raça Boxer os nódulos identificados foram maioritariamente classificados como tumores de grau I e grau II. Por seu turno, os Labrador Retriever apresentaram uma frequência maior de tumores de grau II e grau II e III.

Tabela 27 - Número de animais consoante a raça e a sua relação com o (s) grau (s) dos mastocitomas múltiplos (N=28).

Raça	Grau					Total
	I	II	III	I e II	II e III	
Boxer	5	6	2	1	1	15
Épagneul Breton	0	0	1	0	0	1
Golden Retriever	0	1	0	0	0	1
Sem Raça Definida	2	1	0	0	1	4
Labrador Retriever	1	2	0	1	2	6
Serra da Estrela	0	0	1	0	0	1
Total	8	10	4	2	4	28

Na Tabela 28 foi comparada a distribuição de tumores solitários e múltiplos, segundo a localização e o número de tumores, nas raças mais afectadas pelas duas formas do tumor. Pode observar-se nesta tabela, que os animais das raças Boxer (n=30 e n=10) e Labrador Retriever (n=9 e n=6) apresentaram maior número de tumores nos membros quer na forma de mastocitoma solitário, quer na forma de mastocitoma múltiplo, respectivamente em relação a outras localizações. Já os Golden Retriever apresentaram maior número de lesões no tronco (Abdómen/Flanco, Dorso, Perineal/ Inguinal, Tórax) (n=8 e n=1), comparativamente ao número de nódulos localizado nos membros (n=3 e n=0) e na zona da cabeça/pescoço (n=1 e n=0) nas formas solitária e múltipla dos mastocitomas, respectivamente.

Apesar de não terem sido analisados animais da raça Shar-Pei com mastocitomas múltiplos, esta raça foi considerada para efeitos comparativos, por ser uma das raças mais afectadas por ambas as formas deste tumor, em vários outros estudos retrospectivos.

Tabela 28 - Comparação entre o número de tumores e a localização nas raças mais afectadas.

	Boxer		Labrador R.		Golden R.	
Nº de animais	N=85	N=15	N=40	N=6	N=12	N=1
Média de Idades	7,0	7,96	7,5	9,67	7,2	8
Localização	Solitários	Múltiplos	Solitários	Múltiplos	Solitários	Múltiplos
Abdómen/ Flanco	10	2	9	1	0	1
Cabeça/ Pescoço	6	2	4	2	1	0
Dorso	7	3	0	1	2	0
Cutâneo/Disseminado	4	5	3	0	0	0
Membros	30	10	9	6	3	0
Perineal/ Inguinal	17	2	8	3	1	0
Tórax	12	3	7	1	5	0
Visceral	0	0	0	0	0	0

	Épagneul B.		Shar-Pei		Serra da Estrela	
Nº de animais	N=2	N=1	N=4	N=0	N=2	N=1
Média de Idades	11,5	10	5,8	x	12,5	15
Localização	Solitários	Múltiplos	Solitários	Múltiplos	Solitários	Múltiplos
Abdómen/ Flanco	0	0	0	0	0	0
Cabeça/ Pescoço	0	0	0	0	0	0
Dorso	0	0	1	0	0	0
Cutâneo/Disseminado	0	0	1	0	0	0
Membros	1	0	1	0	0	1
Perineal/ Inguinal	1	1	0	0	1	0
Tórax	0	0	1	0	1	1
Visceral	0	0	0	0	0	0

Foi possível comparar, na Tabela 29, as frequências das duas formas tumorais em estudo, nas raças mais atingidas pelo mastocitoma. Pode observar-se que os cães com maior frequência de tumores múltiplos foram os da raça Boxer (n=15, 15,00% de tumores múltiplos) seguidos pelos animais da raça Labrador Retriever (n=6, 13,33% de tumores múltiplos).

Tabela 29 - Comparação do número de animais da mesma raça com mastocitomas solitários e múltiplos.

Raça	Solitário	Múltiplos	Total	% Múltiplos
Boxer	85	15	100	15,00%
S.R.D	61	4	64	6,25%
Labrador Retriever	40	6	46	13,33%
Golden Retriever	12	1	13	7,69%
Outras raças	74	2	76	2,6%
Total	271	28	299	9,36%

Em resumo, na Tabela 30 é possível aferir que na forma solitária, os nódulos localizam-se maioritariamente nos membros (n=81, 29,89%) e região inguinal/perineal (n=55, 20,30%), ao passo que na forma de tumores múltiplos, estes aparecem mais frequentemente nos membros (n=21, 41,18%) e na região da cabeça/pescoço (n=6, 11,76%).

Tabela 30 - Frequência de nódulos solitários e múltiplos consoante a localização.

Localização	Solitário		Múltiplos	
	N=271	Freq.%	N=51	Freq.%
Membros	81	29,89%	21	41,18%
Perineal/Inguinal	55	20,30%	5	9,80%
Tórax	42	15,50%	5	9,80%
Abdómen/Flanco	34	12,55%	5	9,80%
Cabeça/Pescoço	27	9,96%	6	11,76%
Cutâneo Indet./Dissem.	13	4,80%	5	9,80%
Dorso	17	6,27%	4	7,84%

2ª Fase - Associação entre aspectos clínicos e epidemiológicos dos tumores

Numa fase posterior deste estudo foram analisadas as fichas clínicas de 142 animais provenientes do hospital escolar da FMV e de 5 clínicas privadas que remeteram amostras de mastocitomas para análise no Laboratório de Anatomia Patológica da F.M.V. Contudo, não foi possível aceder aos dados clínicos de 32 animais, por desconhecimento da identificação do dono ou por ausência das fichas clínicas desses animais nas instituições consultadas. Neste contexto analisaram-se os dados de 111 animais com mastocitoma: 98 com tumores solitários e 13 com mastocitoma múltiplo.

2.3.3. Relação entre os aspectos clínicos e histológicos nos tumores solitários.

Na Tabela 31 pode constatar-se que 23 (23,5%) dos 98 animais da amostra apresentavam história de patologia cutânea anterior ao mastocitoma. No entanto os dados não evidenciaram associação estatística entre o grau do mastocitoma e a existência de uma patologia cutânea anterior ($p=0,810$). Foi também investigada a possível associação entre a patologia cutânea (PC) e os outros aspectos clínicos mas não foi encontrada evidência de associação, pelo teste do Qui-quadrado de Pearson, entre a PC e a ulceração ($X^2=0,31$, 1g.l., $p=0,576$), entre a PC e as recidivas ($X^2=1,64$, 1g.l., $p=0,200$) e a PC e a metastização ($X^2=1,25$, 1g.l., $p=0,263$).

Tabela 31 – Distribuição dos aspectos clínicos versus grau histológico (N=98).

		Grau				p
		I	II	III	Total	
Patologia cutânea	Sim	7	9	7	23	$X^2=0,42$, 2g.l. $p= 0,810^a$
	Não	12	21	18	51	
	Não se sabe	6	11	7	24	
Ulceração	Sim	6	9	12	27	$X^2=2,39$, 2g.l. $p= 0,303$
	Não	19	32	20	71	
Recidiva	Sim	10	15	14	39	$X^2=0,91$ 2g.l. $*p= 0,634^a$
	Não	12	21	12	45	
	Sem Seguimento	3	5	6	14	
Metástases	Sim	0	5	7	12	$X^2=1,04$ 1g.l. $p=0,307^b$
	Não	22	28	22	72	
	Sem Seguimento	3	8	3	14	
Total		25	41	31	98	

^a Os casos de “Não se sabe” ou “Sem seguimento” não foram considerados no cálculo de X^2 .

^b Os tumores de grau I não foram considerados no cálculo do X^2 .

Nas 98 amostras, encontraram-se 27 animais com tumores ulcerados, dos quais 12 (44,4%) foram classificados com grau III, 9 (33,3%) com grau II e 6 (22,2%) com grau I. Apesar de o número de tumores ulcerados aumentar proporcionalmente com grau histológico, os dados evidenciam não existir associação entre estas duas variáveis ($p=0,303$).

Dos 98 animais analisados, 14 não fizeram acompanhamento pós – cirúrgico nas clínicas onde se removeu o tumor, não havendo assim informações acerca do seguimento desses animais.

Das 39 recidivas registadas do tumor primário, 21 ocorreram em locais diferentes da origem, sendo que 10 recidivas revelaram-se sob a forma de mastocitomas múltiplos, com o mesmo grau do tumor primário e apenas 2 nódulos de recidiva apresentaram grau histológico superior. A recidiva no local de origem dos tumores ocorreu em 18 animais.

Não se verificou associação estatística entre a recidiva e o grau dos 84 tumores cujo seguimento foi conhecido ($p=0,634$).

Nos 84 animais com seguimento, detectou-se uma taxa de metastização de 14,3%, sendo esta maior nos animais com lesões de grau III.

Nos 12 animais que sofreram metastização, 5 tumores (41,66%) encontravam-se na região perineal/inguinal e metastizaram para os linfonodos regionais e, apenas 1 metastizou no baço. No que diz respeito à localização das metástases, apesar de não ter sido possível avaliar todas as fichas clínicas dos animais, pela análise da base de dados inicial, observou-se a ocorrência de metastização em 15 animais - 12 casos (80,00%) ocorreram nos linfonodos, 1 (0,07%) na medula óssea, 1 (0,07%) no baço e 1 (0,07%) no fígado e rim. Das 15 amostras, 9 (60%) foram classificadas com grau III.

A Tabela 32 apresenta a distribuição dos tumores ulcerados consoante o grau e o tamanho (conhecido em apenas 21 dos 27 tumores ulcerados da amostra). Pode observar-se que os tumores ulcerados apresentaram na sua maioria tamanhos superiores a 2 centímetros.

Tabela 32 - Associação entre tumores ulcerados, o seu tamanho e o grau histológico (N=21).

Tamanho	Grau das lesões ulceradas			Total
	I	II	III	
<2 cm	5	0	0	5
[2-4 cm[0	5	4	9
>4cm	1	2	4	7
Total	6	7	8	21

Na Tabela 33 pode verificar-se que dos 84 animais em seguimento, 53 (63,1%) estavam vivos no final deste estudo. Apesar de não ter sido possível estabelecer o tempo de sobrevivência, verificou-se a existência de associação estatística entre o grau e a

sobrevivência dos animais (p=0,012), além de que o número de animais mortos aumentou proporcionalmente com o grau.

Tabela 33 - Distribuição do número de animais vivos e mortos consoante o grau (N=98).

Sobrevivência	Grau			Total	p
	I	II	III		
Vivo	18	22	13	53	$\chi^2=8,80,$
Morto	3	12	16	31	2g.l.,
Sem seguimento	3	7	4	14	p= 0,012
Total	24	41	33	98	

Para a maioria dos animais, 76 (84,44%), a excisão cirúrgica foi a única forma de tratamento. Em 7 animais administrou-se prednisolona antes da excisão cirúrgica. Dos restantes animais 11 (12,22%) fizeram inicialmente cirurgia e quimioterapia pós-cirúrgica complementar, utilizando como protocolo quimioterápico a combinação de Vimblastina com prednisolona por 12 semanas, de acordo com o estabelecido por Thamm *et al.*, (1999) e apenas 1 fez tratamento com Vincristina, por ter Linfoma concomitante ao mastocitoma. Dos animais sujeitos a tratamento adjuvante, 5 morreram: 4 tratados com prednisolona e 1 com Vimblastina e prednisolona. Os animais com tumores de grau III sobreviveram 3 meses e os de grau II entre 4 a 18 meses.

2.3.4. Relação entre os aspectos clínicos e histológicos nos tumores múltiplos.

Dos 27 animais com tumores múltiplos, foi possível analisar as fichas clínicas de apenas 13, dos quais 6 (Tabela 34) apresentaram história de patologia cutânea anterior ao mastocitoma.

Tabela 34 – Distribuição dos aspectos clínicos versus grau nos mastocitomas múltiplos.

		Grau					Total
		I	II	III	I e II	II e III	
Patologia cutânea	Sim	1	2	1	1	1	6
	Não	3	2	1	1	0	7
Ulceração	Sim	0	3	0	0	1	4
	Não	4	1	2	2	0	9
Recidiva	Sim	1	1	2	0	1	5
	Não	3	3	0	2	0	8
Metástases	Sim	0	0	1	0	1	2
	Não	4	4	1	2	0	11
Total		4	4	2	2	1	13

Os dados da amostra não evidenciaram associação entre o grau e a patologia cutânea anterior ao mastocitoma (pelo teste exacto de Fischer=1,28, 2g.l., p=1,000). Os tumores de grau II e III não foram considerados no cálculo.

Dos 13 animais desta amostra, 4 (30,7%) apresentavam ulceração dos nódulos neoplásicos, 5 (38,5%) apresentaram reincidência do tumor original e 2 (15,4%) apresentaram metastização.

A Tabela 35 mostra-nos que dos 13 animais avaliados, apenas 3 estavam mortos no final deste estudo – 2 animais com tumores de grau II e 1 animal portador de um tumor de grau III.

Não foi possível avaliar o tamanho das lesões múltiplas, pois na maioria dos casos avaliados, não havia informação disponível.

Tabela 35 - Associação entre a sobrevivência e o grau dos mastocitomas.

Sobrevivência	Grau					Total
	I	II	III	I e II	II e III	
Vivo	2	2	1	2	1	8
Morto	0	2	1	0	0	3
Sem seguimento	2	0	0	0	0	2
Total	4	4	2	2	1	13

Neste grupo de animais, todos foram sujeitos a cirurgia e apenas 2 fizeram quimioterapia com Vimblastina e prednisolona após a extirpação – ambos vivos no final deste estudo.

2.4. Discussão

Da experiência adquirida durante a pesquisa destaca-se a importância primordial que o preenchimento completo e criterioso das fichas clínicas representa, nomeadamente no que concerne à descrição das lesões, como por exemplo, ao tamanho, consistência, localização, superfície, aderência aos tecidos adjacentes, e outros aspectos clínicos, como a pigmentação, a temperatura, o eritema, a alopecia, entre outros, tanto na análise histopatológica, pois torna o diagnóstico mais rápido, como no levantamento de dados para estudos retrospectivos, como este.

A forma clínica mais comum do mastocitoma é a presença de nódulos solitários, com menos de 3 centímetros que podem aumentar até aos 30 centímetros de tamanho, mas podem também observar-se a de forma difusa ou como espessamentos inflamatórios da derme e envolver mais de 60% da superfície corporal.

Os mastocitomas múltiplos ocorrem em 5-11% dos casos descritos (Fox, 2002). Neste estudo foram encontrados 28 (9,36%) casos de mastocitoma cutâneo múltiplo, o que está de acordo com as frequências de 5-29% referidas por Welle *et al.* (2008), Weiss & Wardrop (2010) e McCaw (2010), mas aquém dos 10-15% determinados por Mullins *et al.* (2006). A origem dos mastocitomas múltiplos permanece desconhecida, pois ainda não se esclareceu se são lesões neoplásicas independentes ou se são uma forma de metastização (Kiupel *et al.*, 2005).

A idade dos animais afectados por mastocitomas solitários variou entre os 11 meses e os 18 anos, intervalo semelhante ao descrito por Patnaik *et al.* (1984), Davies *et al.* (1992) e Murphy *et al.* (2004), sendo a média encontrada de 8,1 anos \pm 2,97 anos o que está de acordo com a média encontrada por Romansick *et al.* (2007) e Costa-Casagrande *et al.* (2008), apesar de ser menor à citada por outros autores como Thamm & Vail (2007) e North & Banks (2008), ainda que maior que a idade descrita por Simpson *et al.* (2004) e Kiupel *et al.* (2005) e (Oliveira, 2008).

Ainda assim, o aparecimento dos mastocitomas ocorre com maior frequência no intervalo compreendido entre os 6 e os 9 anos de idade conforme narra a literatura (Pires *et al.*, 2003; Furlani *et al.*, 2008).

A média de idades dos animais com mastocitomas múltiplos foi de 9 anos \pm 2,95 anos, o que está de acordo com a média de idades descrita por Mullins *et al.* (2006). Com efeito, é sugerido que os animais mais velhos possam ser mais afectados por mastocitoma múltiplos, bem como por outras neoplasias devido ao facto de acumularem mutações genéticas no seu ADN ao longo dos anos, tornando-se assim susceptíveis ao desenvolvimento de mastocitomas em vários locais, por transformação neoplásica de diferentes mastócitos (Kiupel *et al.*, 2005).

No que diz respeito ao sexo dos animais, verificou-se neste estudo que a frequência de tumores solitários foi maior em machos (57,19%) do que em fêmeas (42,80%), o que está de acordo com os dados descritos por outros estudos (Takahashi, 2000; Oliveira, 2008) que apontam para uma maior susceptibilidade de cães do sexo masculino e contraria os dados de London & Seguin, (2003), Preziosi *et al.* (2007); Furlani *et al.* (2008); Costa-Casagrande *et al.*, (2009) os quais não assinalaram frequências superiores em machos em relação às fêmeas e, os dados de Simões *et al.* (1994) e Ferreira *et al.* (2008) que relatam maior susceptibilidade do sexo feminino.

No caso dos mastocitomas múltiplos, observou-se uma frequência ligeiramente superior nos machos (53,57%), o que contraria os achados de Mullins *et al.* (2006) que encontraram 77,78% de fêmeas, a maioria das quais castradas (3,5 fêmeas para cada macho em estudo). De notar também a grande diferença que existe entre o número de animais castrados e animais inteiros. Com efeito, a ocorrência de mastocitomas foi mais frequente nas fêmeas (29,15% e 25,00%) e machos inteiros (49,45% e 53,57%) no caso dos mastocitomas solitários e múltiplos, respectivamente, o que pode reflectir uma possível influência das hormonas sexuais no aparecimento deste tumor.

A presença de receptores de estrogéneos e progesterona em mastocitomas caninos foi relatada por Elling & Ungemach em 1982, tendo sido mais tarde posta em causa por Larsen & Grier (1989), que consideraram que a presença destes receptores no citosol dos mastócitos neoplásicos era devida à ligação inespecífica de outras moléculas aos receptores de estrogéneo utilizados no ensaio (Larsen & Grier, 1989). No ano 2000, Takahashi relatou no seu estudo que a incidência de tumores viscerais foi maior em machos do que em fêmeas. No entanto este estudo incluiu apenas 10 animais, 8 machos inteiros e 2 fêmeas castradas, o que limitou as ilações quanto à relação entre o sexo e a incidência de tumores viscerais nos cães. Em 1998, Guerritsen *et al.*, concluíram que as fêmeas tratadas com quimioterapia apresentavam melhor prognóstico em relação aos machos (Guerritsen *et al.*, 1998 citado por Welle *et al.*, 2008). Apesar das diferenças encontradas na incidência de tumores em machos e fêmeas, não foi ainda possível esclarecer o papel exacto dos receptores hormonais nos mastócitos caninos (Kiupel *et al.*, 2005).

O mastocitoma cutâneo foi já descrito em grande parte das raças caninas atingindo principalmente raças puras como Boxer, Boston Terrier, Basset Hound, Weimaraner, Beagle, Pointer, Pug, Pastor Alemão, Labrador Retriever, Golden Retriever e Shar Pei (Patnaik *et al.*, 1984; Welle *et al.*, 2008). Tal como em grande parte dos estudos retrospectivos realizados, também neste se determinou um elevado número de Boxers (n=85, 32%) e cães sem raça definida (n=60, 22%). No entanto, a maioria dos animais é de raça pura (77,9%) o que está de acordo com o descrito por Costa-Casagrande *et al.*, 2008; Oliveira, 2008).

Alguns autores relatam uma maior frequência de mastocitomas solitários em Labradores e Golden Retrievers (Romansick *et al.*, 2007), sendo o primeiro mais predisposto ao desenvolvimento do mastocitoma cutâneo múltiplo (Rogers *et al.*, 1996, citado por Ferreira *et al.*, 2008), enquanto outros determinam incidências maiores em animais sem raça definida (Furlani *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2008).

Os dados da presente análise aos mastocitomas múltiplos revelaram que a ocorrência de tumores múltiplos é maior em Boxers (n=15, 51,85%) e Labradores (n=6, 22,22%) do que em Golden Retrievers (n=1, 3,7%), o que está de acordo com a bibliografia consultada (Kiupel *et al.*, 2005; Mullins *et al.*, 2006), na qual os autores descrevem uma maior predisposição dos animais de raça Boxer para o desenvolvimento de mastocitomas múltiplos. Foi entretanto publicado um estudo que determina uma maior predisposição de Golden Retriever para mastocitomas múltiplos e a sua ocorrência em menor número em animais da raça Labrador Retriever (Murphy, Sparkes, Blunden, Brearley, & Smith, 2006). Seria necessária uma amostra maior que incluísse mais raças puras, para que a validade dos resultados aqui apresentados fosse comprovada. Infelizmente registaram-se apenas 23 animais pertencentes a cinco raças puras diferentes e 4 cruzados sem raça definida, o que limita as conclusões quanto à relação entre a incidência de mastocitomas múltiplos e as raças acometidas.

Na amostra estudada apenas 2 animais apresentaram mastocitoma com origem visceral, um animal não tinha raça definida e outro era um Podengo Português. Dado o reduzido tamanho da amostra, não é possível fazer qualquer associação à bibliografia consultada, no que concerne às raças mais afectadas por esta forma neoplásica. No ano 2000, Takahashi e seus colaboradores relataram uma maior incidência de mastocitomas com origem visceral em raças miniatura como Malteses, Yorkshire Terriers e Lulus da Pomerânia.

A média de idades dos animais de raça Shar-Pei foi de 5,8 anos, média superior à de 4,3 anos descrita por Miller, (1995). No seu estudo, Miller determinou que os animais da raça Shar-Pei foram afectados por mastocitomas de elevado grau histológico, mesmo em idades inferiores a 2 anos (tumores com maior probabilidade de recidiva). No presente estudo analisaram-se 4 animais da raça Shar-Pei, os quais apresentavam 2 nódulos de grau II, 1 nódulo de grau I e 1 nódulo de grau III, sendo que este tumor, apesar do pequeno tamanho (0,5 cm), apresentou maior agressividade biológica.

Os dados da presente análise não descortinaram associação estatística entre o grau e a raça dos animais ($p=0,402$). Ainda assim, foi possível verificar que os animais de raça pura apresentaram, na sua maioria, tumores bem a moderadamente diferenciados, isto é, tumores de grau I e II, o que está de acordo com o descrito por Oliveira (2008).

As diferenças encontradas entre a incidência dos mastocitomas em raças diferentes, segundo vários autores, reflectem a popularidade de determinadas raças numa dada região ou país, um factor a ter em conta quando se comparam estudos de países diferentes.

Em relação à localização dos mastocitomas, concluiu-se que a maioria destes tumores teve origem nos membros, quer no caso dos mastocitomas solitários (29,41%), quer no caso dos mastocitomas múltiplos (42%). No caso dos mastocitomas solitários, estes resultados estão de acordo com os 50,0% e 41,4% descritos por Newman *et al.* (2007) e Oliveira (2008), respectivamente, nos membros.

Vários estudos consultados apresentam os resultados das frequências dos tumores agrupados em apenas 3 categorias, considerando os tumores localizados no tórax, abdómen, dorso e região inguinal/perineal, como pertencentes à categoria “tronco”. Como tal, ao agrupar as localizações deste estudo em 3 categorias pode constatar-se que a prevalência das lesões é de 52,94% e 80% no tronco, 29,41% e 42% nos membros e 9,56% e 12% na cabeça/pescoço, para tumores solitários e múltiplos, respectivamente. Estes resultados são semelhantes aos de Goldschmidt & Hendrick (2002), Fox (2002), Simpson *et al.*, (2004), Sfiligoi *et al.*, (2005) Kiupel *et al.*, (2005) Mullins *et al.*, (2006) e Thamm & Vail (2007), que referiram lesões com a frequência de 48% a 60% na região do tronco, cerca de 25% a 40% nos membros e 10% a 16% nas regiões da cabeça e pescoço, ao contrário do que acontece nos gatos, por exemplo, os quais apresentam 58% de lesões na cabeça (Hahn, 2002).

Os nódulos localizados na região inguinal/ perineal são descritos por vários autores, como estando associados a pior prognóstico, quando comparados com tumores localizados noutras regiões, pelo que as lesões aí localizadas devem ser consideradas como de risco elevado de recorrência ou metastização (Thamm & Vail, 2007). Neste estudo, não se encontrou associação estatística entre a localização inguinal/perineal e o grau ($p=0,643$), nem associação entre a localização e as recidivas ($p=0,901$), similarmente ao descrito por Cahalane *et al.* (2004); Sfiligoi *et al.* (2005) e Kiupel *et al.* (2005), os quais demonstraram que tumores na região inguinal e perineal não apresentam pior prognóstico, nem taxas de sobrevivência menores em relação a tumores de outras localizações.

As localizações que deram origem a mais recidivas de tumores solitários foram os membros (14/39), a região inguinal/perineal (8/39) e o tórax (6/39). Quanto à metastização, apesar de não se verificar associação estatística com a localização, 6 dos 12 tumores que metastizaram, tiveram origem na região inguinal/perineal, o que está de acordo com o descrito por Cahalane *et al.*, (2004) que afirmam que os tumores localizados nesta região têm maior probabilidade de metastizar.

Neste estudo apuraram-se 55 tumores na região inguinal/perineal dos quais 12 (21,82%) eram de grau I, 25 (45,45%) eram de grau II e 18 (32,73%) eram de grau III. Estes resultados vão de encontro aos 14% de grau I, 68% de grau II e 16% de grau III obtidos por Sfiligoi *et al.*, (2005).

Os tumores desta região neste estudo estavam localizados na sua maioria no escroto (n=33, 62,26%), contrariamente aos 14% descritos por Sfiligoi *et al.*, (2005), que relata uma frequência maior de lesões no prepúcio (19%).

À semelhança dos tumores do escroto, também os tumores na região da cabeça e pescoço foram classificados na sua maioria em grau I ou II (73,08%) e (26,92%) de grau III, contrariamente aos resultados obtidos por Oliveira (2008), que obteve uma maior frequência de tumores de grau III nas regiões da cabeça/pescoço e na região inguinal/ perineal.

A forma visceral, com envolvimento do baço, fígado e/ ou medula óssea, é por norma resultado da disseminação de um tumor primário agressivo, com origem na pele (Tyrrel & Davis, 2001), mas pode ocorrer mastocitoma visceral primário, sem envolvimento cutâneo (Takahashi, *et al.*, 2000) por transformação tumoral de mastócitos presentes na medula óssea ou nos órgãos internos (London & Seguin, 2003). Estão descritos tumores primários com origem nas cavidades torácica e abdominal, sem história de lesões cutâneas anteriores (Takahashi *et al.*, 2000).

Neste estudo encontraram-se apenas 2 animais, 2 fêmeas, com mastocitoma visceral de grau III, uma S.R.D. e uma pertencente à raça Podengo Português. O primeiro animal desenvolveu mastocitoma na mucosa rectal aos 12 anos de idade enquanto o segundo, com 5 anos, desenvolveu mastocitoma na parede do estômago.

Apresentavam como sinais clínicos anorexia, vômito e perda de peso progressiva. Não apresentavam história de patologia cutânea anterior. Estes achados vão de encontro ao descrito na bibliografia, que refere que os locais mais predispostos ao desenvolvimento de mastocitomas viscerais são a transição ileo-cecal, linfonodo mesentérico cranial, porção dorso-caudal do mediastino, linfonodo hepato-pancreático e origem desconhecida (Patnaik *et al.*, 1980, Davies *et al.*, 1981, Patnaik *et al.*, 1982, Clark *et al.*, 1986 e Pollack *et al.*, 1991 citados por Takahashi *et al.*, 2000).

Não foi possível estabelecer o tempo de sobrevivência em ambos os casos

Vários estudos referem que algumas raças apresentam localizações afectadas com maior frequência. Assim, está descrito que Boxers e Pugs apresentam maior número de tumores localizados nos membros posteriores bem como tumores múltiplos, Boston Terriers e American Staffordshire Terriers têm maior incidência de lesões nos membros pélvicos, Leões da Rodésia têm com maior frequência tumores na cauda e membros posteriores, Weimeraners e Golden Retriever são mais propensos a desenvolver lesões múltiplas e, Setters Ingleses têm preferencialmente tumores na cabeça e membros posteriores (Welle *et al.*, 2008).

Da análise estatística realizada neste estudo confirmou-se apenas a premissa que relaciona a maior frequência de tumores em determinadas localizações consoante as raças, na raça Boxer, pois encontrou-se uma maior frequência de tumores nos membros (35,2%, (30/85) eram tumores solitários e 35,7% (10/28) eram tumores múltiplos).

Em relação aos animais de raça Weimaraner e Leão da Rodésia, foram observados apenas 1 exemplar de cada raça, sendo que os seus tumores tiveram origem nas regiões vulvar e num membro anterior, respectivamente o que não está de acordo com a bibliografia (Welle *et al.*, 2008).

O tamanho médio dos tumores solitários foi, à data da excisão, 3,05 cm \pm 2,41 cm e variou entre os 0,5 cm e os 13 cm de eixo maior, sendo que o tamanho médio foi superior aos 2 centímetros relatados por Séguin *et al.* (2001) e Simpson *et al.* (2004). As raças com tumores de maior tamanho médio foram o Labrador e Golden Retriever, no entanto não se verificou associação estatística entre o tamanho e a raça dos animais acometidos por mastocitoma ($p=0,523$). A associação entre o grau e tamanho tumoral, revelou que existe uma associação estatisticamente significativa entre estas variáveis ($p=0,001$). Com efeito, os tumores de grau I apresentaram na sua maioria, tamanho inferior a 2 cm e média de 1,8 cm, os tumores de grau II apresentaram com mais frequência tamanhos compreendidos entre os 2 e os 4 cm e média de 3,1 cm e, os tumores de grau III, tinham na sua maioria, tamanho superior a 4 centímetros e uma média de 4,1 cm, o que está de acordo com o descrito por Simpson *et al.* (2004) e Fulcher *et al.* (2006).

As localizações com o maior tamanho médio foram o tórax (3,61 cm), o dorso (3,60 cm) e os membros (3,30 cm), no entanto, o tamanho das lesões observadas na amostra não apresentou associação estatística com a localização ($p=0,629$).

Os mastocitomas foram graduados seguindo os critérios estabelecidos por Patnaik *et al.*, (1984). Foi avaliada a quantidade de citoplasma, forma e diferenciação da célula, forma e coloração do núcleo, número de nucléolos, número de figuras de mitose e outras alterações como edema, necrose e alterações vasculares, o que permitiu o estabelecimento da diferenciação dos tumores em 3 graus histológicos grau I: (bem diferenciado), grau II (moderadamente diferenciado) e grau III (indiferenciado).

As margens cirúrgicas foram também avaliadas, conforme o recomendado por Thamm & Vail (2007).

Confirmou-se uma maior frequência de mastocitomas de grau II ($n=122$, 44,73%), seguidos dos mastocitomas de grau I ($n=74$, 27,64%) e por fim de grau III ($n=73$, 26,91%), resultados não concordantes com os 34,4% de tumores de grau I, 33,3% de grau II e 32,2% de grau III encontrados por Oliveira (2008). Estes resultados são, no entanto, semelhantes aos encontrados por Patnaik *et al.* (1984), Riva (2000), Rech *et al.* (2004) e Romansick *et al.* (2007).

Quanto à gradação dos tumores múltiplos, foram mais frequentes os tumores de grau I e II (78,78%) e menos frequentes os tumores de grau III (21,21%). Estes resultados estão de acordo com as frequências obtidas por Mullins *et al.*, (2006) que determinou uma prevalência de 83% para os graus I e II e 17% para os tumores de grau III.

Num estudo recente, Strefezzi *et al.*, (2010) consideram a graduação histopatológica como um excelente indicador de prognóstico, por ser possível estabelecer uma relação entre esta, a morte associada ao tumor e o tempo de sobrevivência pós-cirúrgica – a mortalidade aumenta proporcionalmente ao grau histopatológico, por conseguinte, quanto maior o grau, menor o tempo de sobrevivência.

Segundo vários autores, a histopatologia deve ser acompanhada por imunohistoquímica do KIT, análise de mutações no receptor c-kit e marcadores de proliferação celular como Ki-67 e AgNORs, de modo a tornar mais eficaz a previsão do comportamento biológico e prognóstico dos mastocitomas (Northrup *et al.*, 2005; Webster *et al.*, 2008; Strefezzi *et al.*, 2010), pois muitas vezes a avaliação histológica é cingida por alguma subjectividade, conduzindo a que ocorram variações intra e interobservador, principalmente na classificação dos tumores de grau II (Thamm *et al.*, 2006; Strefezzi *et al.*, 2010).

Em relação à etiologia do mastocitoma, foi sugerido por alguns autores, que além das mutações também a inflamação cutânea crónica possa estar envolvida no desenvolvimento do mastocitoma (Dunn *et al.*, 1957; Hottendorf *et al.*, 1967 e Peterson *et al.*, 1985 citados por Thamm & Vail, 2007). Contudo, são poucos os casos descritos associados a dermatite crónica, à formação de cicatrizes ou à exposição a substâncias. Outros estudos sugeriram causas virais, através de experiências com transplantação de células tumorais e extractos celulares para animais de laboratório, jovens ou imunodeprimidos, com resultados que pouco sustentam esta hipótese (Bowles *et al.*, 1972; Lombard *et al.*, 1959 e Nielson *et al.*, 1961 citados por Welle *et al.*, 2008).

Com base na possível associação entre a inflamação cutânea crónica e o aparecimento do mastocitoma, descrita no ponto 1.2.5, tentou-se relacionar na segunda fase deste trabalho, a presença de história de patologia cutânea, caracterizada por prurido, eritema, exsudação, otites, dermatites, com os aspectos clínicos e o grau histopatológico do mastocitoma.

Dos 98 animais avaliados, não se obtiveram registos completos relativos à possível presença de patologia cutânea anterior ao mastocitoma em 24. Ainda assim, dos 74 conhecidos, 23 (31,1%) apresentaram história de patologia cutânea anterior à origem do mastocitoma, tendo ocorrido em maior número nos tumores de grau II. No entanto, este dado não apresentou associação estatisticamente significativa com o grau ($p=0,810$), ulceração ($p=0,576$), recidiva ($p=0,200$) ou com a metastização ($p=0,263$).

No que concerne à forma múltipla do mastocitoma, das 27 amostras, só foi possível avaliar as fichas clínicas de 13, dos quais 6 (22,2%) apresentaram história de patologia cutânea anterior ao mastocitoma, mas os dados analisados não revelaram associação estatística entre a patologia cutânea e o grau ($p=1,000$). Não há até à data, nenhum estudo que relacione a ocorrência de tumores múltiplos com a inflamação cutânea crónica. Apesar dos resultados, é importante referir que muitos destes animais surgiram à consulta veterinária para diagnóstico do nódulo cutâneo, não tendo sido registado correctamente todo o historial

clínico pelas entidades onde posteriormente se removeu o tumor, bem como noutros casos, não houve seguimento pós-cirúrgico.

Das 98 amostras de tumores solitários, apenas 27 (27,5%) apresentavam ulceração. Destas, 12 (44,4%) foram classificadas com grau III de malignidade, 9 (33,3%) com grau II e 6 (22,2%) com grau I, o que vai de encontro ao referido por Govier (2003). A ulceração encontrou-se com maior frequência nos tumores de grau III, conforme o descrito por Oliveira (2008). No entanto não se verificou associação estatística entre o grau e a presença de ulceração ($p=0,303$) nos mastocitomas solitários. Os tumores solitários ulcerados apresentaram na sua maioria tamanhos superiores a 2 centímetros e pôde estabelecer-se associação estatística entre o tamanho e o grau destes, ($p=0,001$), o que está de acordo com a bibliografia consultada, que descreve os tumores ulcerados como frequentemente associados a um maior grau histopatológico e a pior prognóstico (Gross *et al.*, 2005; Mullins *et al.*, 2006; Thamm & Vail, 2007).

Na amostra de 84 animais com tumores solitários em seguimento, verificaram-se em 39 casos (40,5%) recidivas do tumor primário, os quais são valores semelhantes aos registados por Patnaik *et al.*, (1984), Michels *et al.*, (2002). A bibliografia consultada descreve uma taxa de recidiva que pode ir desde os 10% aos 50%, sendo que os tumores de grau II podem ter taxas de recorrência até 50% (Séguin *et al.*, 2001). Neste estudo pode verificar-se que dos 36 tumores de grau II avaliados, 15 (41,7%) recidivaram. Dos 39 tumores primários que sofreram recidiva, 21 dos novos tumores desenvolveram-se em locais diferentes da origem e 18 no mesmo local. Não se verificou associação estatística entre a recidiva e o grau dos 84 tumores cujo seguimento é conhecido ($p=0,634$), o que está de acordo com Michels *et al.*, (2002), que afirmam que é possível que o grau histopatológico não seja um indicador de prognóstico importante quando se obtém margens cirúrgicas livres de células neoplásicas, mas em desacordo com o descrito por Oliveira (2008). A maioria dos animais desta amostra, foi sujeita a extirpação cirúrgica com margens mínimas de 2 centímetros. Não foi possível estabelecer associação estatisticamente significativa entre a ocorrência de recidivas e a localização dos tumores ($p=0,901$). A percentagem de animais que sofreram recidiva e/ou metastização dos tumores de grau I e II, 35,71%, é semelhante aos 33,33% descritos por Oliveira (2008). No entanto, neste estudo a percentagem de animais que sofreram recidiva/metástase dos seus tumores de grau III foi de 25,00%, ao contrário do encontrado por Oliveira (2008), que encontrou uma taxa de 88,46% nos tumores de grau III.

Quanto aos tumores múltiplos, 5 (38,5%) recidivaram: 2 lesões de grau III, 1 de grau I, 1 de grau II e 1 de grau II e III, mas não se determinou associação estatística entre estas variáveis ($p=0,214$). Tal pode dever-se ao facto de a maioria das lesões ter sido diagnosticada recentemente, pelo que é normal que haja uma baixa taxa de recidivas.

Apenas 2 (15,4%) animais apresentarem metastização dos tumores múltiplos. Este valor é inferior aos 29,6% encontrados por Kiupel *et al.* (2005) e aos 44% de Mullins *et al.* (2006).

Dos 13 animais avaliados, apenas 3 estavam mortos no final deste estudo, sendo que os 2 animais com tumores de grau II sobreviveram mais de 2 anos. A maioria dos tumores múltiplos estudados foi diagnosticada recentemente (a maioria há menos de 2 anos), pelo que não é possível retirar qualquer conclusão acerca do comportamento potencialmente maligno desta forma tumoral. Ainda que a amostra seja pequena, pode afirmar-se que pelo menos nesta amostra, o mastocitoma múltiplo não apresenta pior prognóstico, o que está de acordo com o descrito por Thamm et al., (1999), Séguin et al., (2001) e Kiupel et al., (2005), contrariando os pressupostos da OMS que classifica os mastocitomas múltiplos no estadio III da doença.

Não foi possível avaliar o tamanho das lesões múltiplas, pois na maioria dos casos estudados, não havia informação disponível. No entanto, pelos dados avaliados neste estudo indiciam que os mastocitomas múltiplos apresentam bom prognóstico.

2.5. Conclusão e perspectivas futuras.

Devido ao carácter retrospectivo deste estudo, surgiram logo à partida algumas dificuldades na recolha dos dados, como a falta de dados particulares dos animais tais como nome, idade, sexo e localização do tumor, muitas vezes descrito como “cutâneo”, bem como ausência do nome do proprietário, facto que se deve ao deficiente preenchimento das requisições que chegam ao Laboratório de Anatomia Patológica da F.M.V. Numa segunda fase da recolha de dados tornou-se difícil chegar às fichas clínicas dos animais amostrados, pois na maioria das Clínicas e Hospitais Veterinários, o nome do proprietário é única forma de chegar aos registos

Apesar das dificuldades encontradas, deve-se ressaltar a importância de que se revestem os estudos retrospectivos, pois só desta forma é possível avaliar as características epidemiológicas de determinada patologia numa região ou país.

O diagnóstico do mastocitoma pode ser realizado com fiabilidade por punção aspirativa com agulha fina, um método simples, seguro e pouco invasivo que permite uma primeira abordagem de diagnóstico. No entanto, a histopatologia, realizada após biópsia incisional, excisional ou extirpação cirúrgica, é fundamental, pois permite avaliar a graduação histológica e assim definir o tratamento mais eficaz a instituir. Tem sido defendida por vários autores como um bom método de predição do comportamento biológico e do prognóstico dos mastocitomas, apesar de ser um método invasivo que em alguns casos, acresce riscos para a vida do animal.

A cirurgia continua a ser o primeiro tratamento de escolha pela sua aplicabilidade, bons resultados obtidos em todos os estudos publicados até à data e devido também à facilidade de acesso, quer pelos Veterinários, por exigir uma menor especialização, quer pelos donos, dado os custos inerentes ao processo.

As terapêuticas adjuvantes, como a quimioterapia, a radioterapia e a electroquimioterapia são benéficas pois reduzem o risco de recidivas e metastização, mas crescem os custos do tratamento, pois obrigam ao uso de equipamentos e instalações próprias, bem como a pessoal especializado na sua aplicação.

Pelos dados epidemiológicos obtidos neste estudo, conclui-se que há uma relação entre a ocorrência de mastocitoma e determinadas raças de cães, como o Boxer, o Labrador Retriever e o Golden Retriever, 3 das raças com maior popularidade em Portugal, e em particular, nas regiões de Lisboa e Vale do Tejo, a área que abrange as clínicas de onde provieram as amostras analisadas. Os animais Sem Raça Definida apresentaram-se como a segunda “raça” mais predisposta a desenvolver esta neoplasia. Seria interessante tentar perceber quais as raças que estão na origem do cruzamento desses animais, pois poderíamos apurar com maior acuidade a predisposição racial.

Devemos no entanto ter presente que a prevalência de mastocitomas em algumas raças pode estar relacionada com a popularidade dessas mesmas raças em determinadas regiões geográficas, a nível global.

Os machos e as fêmeas inteiros apresentaram maior número de casos. No que diz respeito a este ponto, há duas possíveis explicações: a primeira é a da influência das hormonas sexuais que podem predispor ao desenvolvimento de mastocitoma, ao influenciar o microambiente onde os mastócitos se dispõem. A bibliografia consultada refere-se apenas à influência das hormonas sexuais no tratamento com quimioterapia, o qual demonstrou melhor prognóstico nas fêmeas castradas. Outra explicação, é que de facto as hormonas sexuais não têm qualquer influência no desenvolvimento do mastocitoma, e o número de machos e fêmeas castrados deve-se simplesmente aos hábitos e estilo de vida dos proprietários dos animais: as fêmeas são castradas como forma de controlo dosaios e de ninhadas indesejadas, enquanto os machos, continuam inteiros, a menos que haja motivos comportamentais ou patológicos que levem à castração.

Há, no entanto, evidências científicas em pacientes humanos, de que existe uma forte ligação entre as hormonas sexuais femininas e os mastócitos. As doenças que envolvem mastócitos, como por exemplo, a asma, ocorrem com maior frequência e com sintomatologia mais exuberante em mulheres do que em homens, durante a infância e adolescência. A progesterona, por exemplo, parece exercer uma maior influência sobre os mastócitos humanos, desempenhando um papel mais importante na maturação e desgranulação do que no recrutamento (Jensen *et al.*, 2010). Seria interessante que a partir destes pressupostos da Medicina Humana, se pudesse transpor para a Medicina Veterinária, o estudo da influência das hormonas sexuais nas doenças que envolvem os mastócitos.

As localizações mais afectadas foram os membros e a genitália externa, tanto nos mastocitomas múltiplos como nos solitários, o que aponta para uma maior predisposição destas áreas para desenvolver lesões neoplásicas.

Apesar de não ter sido possível encontrar evidência da relação entre a ocorrência de patologia cutânea e o grau do mastocitoma, acredita-se que esta relação pode ser estabelecida. O facto de se tratar de um estudo retrospectivo dita á partida algumas limitações – na maioria dos casos, apesar de não existir registo da ocorrência de algum tipo de patologia cutânea anterior à ocorrência de mastocitoma, a autora acredita que tal se deve ao facto de muitas vezes os animais serem conduzidos às clínicas apenas para remoção dos nódulos, não ficando registado qualquer dado da história pregressa que não se relacione directamente com a origem e progressão da neoplasia.

Outra limitação encontrada foi o facto de os sinais cutâneos de doença serem muitas vezes subvalorizados. Grande parte dos animais que apresentavam prurido, foram submetidos a tratamento sintomático, não tendo sido explorada a vertente clínica, ou pelo menos não existiam registos disso, tanto nas dermatites interdigitais, como nos animais com prurido generalizado ou mesmo nos animais com otite.

Este é o primeiro estudo que tenta relacionar a patologia cutânea com o desenvolvimento de mastocitomas múltiplos e solitários, pelo que não existem fontes bibliográficas para comparação. Além disso, a amostra de mastocitomas múltiplos em estudo foi bastante reduzida, o que limita as conclusões.

A realização de um estudo prospectivo que inclua todas as entidades clínicas manifestadas pelos animais que padecem de mastocitoma, através da recolha de informações num formulário adaptado a esta patologia, pode ajudar na determinação de uma eventual associação entre as variáveis aqui estudadas.

Seria também interessante relacionar a distribuição anatómica e a densidade populacional de eosinófilos e outras células inflamatórias em redor dos mastocitomas e outros tumores que se desenvolvem simultaneamente, de forma a investigar a interacção entre estas células, o micro-ambiente circulante e assim identificar as várias moléculas e mediadores presentes, estudar as vias de ligação entre si e a sua relação com os factores de prognóstico, como por exemplo, o grau histológico e determinar se existe algum factor que predisponha ao desenvolvimento destes tumores em simultâneo.

Durante a recolha dos dados para a realização deste estudo, detectou-se que além do mastocitoma, vários animais albergavam outros tipos de tumores, como carcinoma mamário, lipomas, fibropapilomas, adenomas sebáceos, adenomas das células apócrinas, melanomas melanocíticos, seminomas, entre outros. Seria interessante explorar retrospectivamente esta co-existência, bem como tentar perceber se existe relação entre estes tumores.

Bibliografia

- Ames, T. R., & O'Leary, T. P. (1983). Mastocytoma in a Cow: A Case Report. *Can J Comp Med* , 48, 115-117.
- Arinobu, Y., Iwasaki, H., Gurish, M. F., Mizuno, S.-i., Shigematsu, H., Ozawa, H., et al. (2005). Developmental checkpoints of the basophil-mast cell lineages in adult murine hematopoiesis. *Proceedings of the National Academy of Science*, 102, 18105–18110.
- Ashman, L. k. (1999). The biology of stem cell factor and its receptor C-kit. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 31, 1037-1051.
- Baker-Gabb, M., Hunt, G. B., & France, M. P. (2003). Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs; clinical behaviour and response to surgery. *Australian veterinary journal* , 81, 732-738.
- Ballegeer, E. A., Forrest, L. J., Dickinson, R. M., Schutten, M., Delaney, F. A., & Young, K. M. (2007). Correlation of ultrasonographic appearance of lesions and cytologic and histologic diagnoses in splenic aspirates from dogs and cats: 32 cases (2002-2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association* , 230, 690-696.
- Barsofi, G., Marchetti, V., & Abramo, F. (2007). Primary conjunctival mast cell tumour in a Labrador Retriever. *Veterinary Ophtalmology* , 10, 60-64.
- Beaven, M. A. (2009). Our perception of the mast cell from Paul Ehrlich to now. *European Journal of Immunology* , 39, 11-25.
- Behmer, O. A., Tolosa, E. M., & Freitas Neto, A. G. (1976). *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: EDART.
- Beltran, E., De Stefani, A., Stewart, J., De Risio, L., & Johnson, V. (2010). Disseminated mast cell tumor infiltrating the sphenoid bone and causing blindness in a dog. *Veterinary Ophthalmology* , 13, 184–189.
- Bergman, P. (2009). Cancer Immunotherapy. *Topics in Companion Animal Medicine* , 24 (3), 130-136.
- Besmer, P., Murphy, J. E., George, P. C., Qiu, F. H., Bergold, P. J., Lederman, L., et al. (1986). A new acute transforming feline retrovirus and relationship of its oncogene v-kit with the protein kinase gene family. *Nature* , 320, 415-421.
- Besnoit, C., & Mathis, D. (2002). Mast cells in autoimmune disease. *Nature* , 420, 875-878.
- Bischoff SC, D. C., Bischoff, SC, Dahllinden, CA. C-kit ligand: a unique potentiator of mediator release by human lung mast cells (1992). *Journal of experimental medicine* , 175, 237-244.
- Bookbinder, P. F., Butt, M. T., & Harvey, H. J. (1992). Determination of the number of mast cells in lymph node, bone marrow, and buffy coat cytologic specimens from dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200, 1648-50.
- Brazis, P., Queralt, M., de Mora, F., Ferrer, L., & Puigdemont, A. (2000). Stem cell factor enhances IgE-mediated histamine and TNF- α release from dispersed canine cutaneous mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* , 75, 97-108.
- Brocks, B. A., Neyens, I. J., Teske, E., & Kirpensteijn, J. (2008). Hypotonic Water as Adjuvant Therapy for Incompletely Resected Canine Mast Cell Tumors: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Veterinary Surgery* , 37, 472–478.
- Brønden, L., Eriksen, T., & Kri, A. (2010). Mast cell tumours and other skin neoplasia in Danish dogs - data from the Danish Veterinary Cancer Registry. Obtido em Maio 2010 de *Acta Veterinaria Scandinavica* : <http://www.actavetscand.com/content/52/1/6>.
- Cahalane, A. K., Payne, S., Barber, L. G., Duda, L., Henry, C. J., Mauldin, G. E., et al. (2004). Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumours

- treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 case (1994-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association* , 225, 401-408.
- Camps-Palau, M. A., Leibman, N. F., Elmslie, R., Lana, S. E., Plaza, S., McKnight, J. A., et al. (2007). Treatment of canine mast cell tumours with vinblastine, cyclophosphamide and prednisone: 35 cases (1997–2004). *Veterinary and Comparative Oncology* , 5, 156-167.
- Cemazar, M., Tamzali, Y., Sersa, N., Tozon, N., Mir, L., Miklavcic, D., et al. (2008). Electrochemotherapy in Veterinary Oncology. *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 22 , 826–831.
- Cole, W. (1990). Mast cell tumor in a puppy. *The Canadian Veterinary Journal* , 31, 457.
- Cooper, M. (2008). *A review of successful outcomes of radiation therapy (RT) for cutaneous neoplasia and side effects associated with this treatment modality*. Obtido em 24 de Setembro de 2010, de Australian College of Veterinary Scientists: http://dermatology.acvsc.org.au/dermatology_assets/documents/proc2008/acvs%20dermatology%20chapter%20proceedings%202008%20-%20cooper%20-%20radiation%20therapy%20review%20pets.pdf
- Cooper, M., Tsai, X., & Bennett, P. (2009). "Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases.". *Veterinary and Comparative Oncology* , 7 , 196-206.
- Costa JJ, D. G. (1996). Recombinant human stem cell factor (kit ligand) promotes human mast cell and melanocyte hyperplasia and functional activation in vivo. *Journal of experimental medicine* , 183, 2681-2686.
- Costa-Casagrande, T. A., Elias, D. S., Melo, S. R., & Matera, J. M. (2008). Estudo retrospectivo do mastocitoma canino no serviço de Cirurgia de pequenos animais – hospital veterinário da Faculdade de medicina veterinária e zootecnia da universidade de São Paulo. *Archives of Veterinary Science* , 13, 176-183.
- Coussens, L. M., & Werb, Z. (2001). Inflammatory cells and cancer: think different! *Journal Experimental Medicine* , 193, 23-26.
- Cowen T, T. P. (1979). Distribution of mast cells in human dermis: development of a mapping technique. *British Journal of Dermatology* , 100, 635–640.
- Daigle, J., Moussy, A., Mansfield, C. D., & Hermine, O. (2010). Masitinib for the treatment of canine atopic dermatitis: a pilot study. *Veterinary Research Communications*, 34, 51–63.
- Dank, G., Chien, M. B., & London, C. A. (2002). Activating mutations in the catalytic or juxtamembrane domain of c-kit in splenic mast cell tumors of cats. *American journal of veterinary research* , 63, 1129-1133.
- Davis, B., Page, R., Sannes, P., & Meutes, D. (1992). Cutaneous Mastocytosis in a Dog. *Journal of Veterinary Pathology* , 29, 363-365.
- De Lorimier, L.-P., & Fan, T. M. (2010). SECTION C: Assessment and Management of Pain in the Cancer Patient. In C. J. Henry, & M. L. Higginbotham, *Cancer management in small animal practice* (176-183). Maryland Heights, Missouri: Saunders, Elsevier.
- De Mora, F., Puigdemont, A., & Torres, R. (2006). The role of mast cells in atopy: what can we learn from canine models? A thorough review of the biology of mast cells in canine and human systems. *British Journal of Dermatology* , 155, 1109–1123.
- De Paulis, A., Minopoli, G., Arbustini, E., De Crescenzo, G., Dal Piaz, F., Pucci, P., et al. (1999). Stem Cell Factor Is Localized in, Released from, and Cleaved by Human Mast Cells. *The Journal of Immunology* , 163, 2799-2808.
- Denerolle, P., White, S. D., Taylor, T. S., & Vandenabeele, S. I. (2007). Organic Diseases Mimicking Acral Lick Dermatitis in Six Dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* , 43, 215 -220.

- DeNicola, D. (2007). Round Cells. In R. Cowell, J. Meinkoth, D. DeNicola, & R. Tyler, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (3 ed., 69-72). Mosby- Elsevier Health Sciences.
- Dobson, & Cohen. (2004). Treatment of canine mast cell tumours with prednisolone and radiotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2, 132-141.
- Dobson, J. M., & Scase, T. J. (2007). "Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs". *Journal of Small Animal Practice*, 48, 424 – 431.
- Dobson, J. M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., & Wood, J. L. (2002). "Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs." *Journal of Small Animal Practice*, 43, 240-246.
- Downing, S., Chien, M. B., Kass, P. H., Moore, P. F., & London, C. A. (2002). Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 63, 1718-1723.
- Echtenacher B, M. D. (1996). Critical protective role of mast cells in a model of acute septic peritonitis. *Nature*, 381, 75-77.
- Feldweg AM, F. D. (2003). gp49B1 suppresses stem cell factor-induced mast cell activation-secretion and attendant inflammation in vivo. *European Journal of immunology*, 33, 2262-2268.
- Ferreira, K., Oliveira, L. O., Oliveira, R. T., Gomes, C., Tourrucão, A. C., Faraon, A., et al. (2008). Estudo retrospectivo de cães acometidos por mastocitoma cutâneo atendidos pelo serviço de oncologia veterinária do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul no período de Maio de 2004 a Junho de 2008. 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária.
- Fox, L. E. (2002). Canine Mast Cell Tumours. In W. B. Morrison, *Cancer in dogs and cats : medical and surgical management* (2ª ed., 451-460). South Highway, Jackson: Teton New Media.
- Fulcher, R., Ludwig, L., Bergman, P., Newman, S., Simpson, A., & Patnaik, A. (2006). Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumours in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 228, 210-215.
- Fureder W, A. H. (1995). Differential expression of complement receptors on human basophils and mast cells. Evidence for mast cell heterogeneity and CD88/C5aR expression on skin mast cells. *The Journal of Immunology*, 155, 3152-3160.
- Furlani, J. M., Daleck, C. R., Vicenti, F. A., De Nardi, A. B., Pereira, G. T., Santana, Á. E., et al. (2008). Mastocitoma canino: Estudo retrospectivo. *Ciência Animal Brasileira*, 9, 242-250.
- Galli S.J., Zsebo K.M., Geissler E.N., (1994). The kit ligand stem cell factor. *Advances in Immunology*, 55, 1-96.
- Galli, S. J., Tsai, M., & Wershil, B. K. (1993). The kit ligand, stem cell factor and mast cell:What Each Is Teaching Us about the Others. *American Journal of Pathology*, 142, 965-974.
- Galli, S., & Kitamura, Y. (1987). Genetically mast-cell-deficient W/W^v and Sl/Sl^d mice. Their value for the analysis of the roles of mast cells in biologic responses in vivo. *The American Journal of Pathology*, 127, 191–198.
- Galli, S., Kalesnikoff, J., Grimbaldeston, M., & Philiponsky, A. (2005). Mast cells: recent advances cells as "tunable" effector and immunoregulatory. *Annual Reviews of Immunology*, 749-86.

- Galli, S., Tsai, M., Wershil, B., Tam, S., & Costa, J. (1995). Regulation of mouse and human mast cell development, survival and function by stem cell factor, the ligand for the c-kit receptor. *International Archives of Allergy and Immunology*, 107, 51–53.
- Garrett, L. D., Craig, C. L., Szladovits, B., & Chun, R. (2007). Evaluation of buffy coat smears for circulating mast cells in healthy cats and ill cats without mast cell tumor-related disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231, 1685–1687.
- Gaschen, F., & Teske, E. (2005). Paraneoplastic syndromes. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (6 ed., 789–795). St Louis: Saunders.
- Gil da Costa, R. M., Matos, E., Rema, A., Lopes, C., Pires, M., & Gärtner, F. (2007). *CD117 immunoexpression in canine mast cell tumours: correlations with pathological variables and proliferation markers*. Obtido em Setembro de 2010, de BioMedCentral Veterinary Research: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/3/19>
- Goldschmidt, M. H., & Hendrick, M. J. (2002). Tumour of the skin and soft tissues. In D. J. Meuten, *Tumours in domestic animals* (45-118). Iowa State Press.
- Govier, S. M. (2003). Principles of Treatment for Mast Cell Tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18, 103-106.
- Grahn, B., Wolfer, J., & Randall, J. (1994). Diagnostic Ophthalmology. *Canadian Veterinary Journal*, 35, 730-731.
- Graphodatsky, A. S., Kukekova, A. V., Yudkin, D. V., Trifonov, V. A., Vorobieva, N. V., Beklemisheva, V. R., et al. (2005). The proto-oncogene C-KIT maps to canid B-chromosomes. *Chromosome Research*, 13, 113–122.
- Grier, R. L., Di Guardo, G., Myers, R., & Merkle, D. F. (1995). Mast cell tumour destruction in dogs by hypotonic solution. *Journal of Small Animal Practice*, 36, 385–388.
- Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J., & Affolter, V. K. (2005). "Mast cell tumors". In T. L. Gross, P. J. Ihrke, E. J. Walder, & V. K. Affolter, *"Skin Diseases of the Dog and Cat Clinical and Histopathologic Diagnosis"* (2ª ed., 853–865). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J., & Affolter, V. K. (2005b). Perivascular diseases of the dermis. In T. L. Gross, P. J. Ihrke, E. J. Walder, & V. K. Affolter, *"Skin Diseases of the Dog and Cat Clinical and Histopathologic Diagnosis"* (201-206). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Gurish, M., & Castells, M. (2010). *Mast cells: Development, identification, and physiologic roles*. Obtido em 02 de Julho de 2010, de www.uptodate.com: <http://www.uptodate.com/online/content/topic.do?topicKey=immunolo/6639&view=>.
- Gurish, M., & Castells, M. (2010). *Mast cells: surface receptors and signal transduction*. Obtido em 29 de Junho de 2010, de UpToDate: www.uptodate.com
- Hahn, K. A., Kinet, J., Dubreuil, P., Moussyc, A., & Herminec, O. (2008 B). *Masitinib: Long-term Efficacy Follow-up Data on Pivotal Phase 3 Study in the Treatment of Dogs with Measurable Grade II and III Mast Cell Tumors*. Obtido em 01 de Setembro de 2010, de Uranovet: <http://uranovet.com/img/productos/masivet/pdf/tecnicos/Poster%20Estudio%20eficacia%20a%20largo%20plazo%20en%20mastocitomas%20grado%20II%20y%20III.pdf>
- Hahn, K., Oglivie, G., Rusk, T., Devauchelle, P., Leblanc, A., Legendre, A., et al. (2008 A). Masitinib is Safe and Effective for the Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 1301–1309.
- He, X., Uchida, K., Tochtani, T., Uetsuka, K., Miwa, Y., & Nakayama, H. (2009). Spontaneous cutaneous mast cell tumor with lymph node metastasis in a Richardson's ground squirrel (*Spermophilus richardsonii*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21, 156-159.

- Henry, C., Downing, S., Rosenthal, R., Klein, M., Meleo, K., Vilamil, J., et al. (2007). Evaluation of a novel immunomodulator composed of human chorionic gonadotropin and bacillus Calmette-Guerin for treatment of canine mast cell tumors in clinically affected dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 68, 1246-1251.
- Hill, P. B., & Martin, R. J. (1998). A review of mast cell biology. *Veterinary Dermatology*, 9, 145-166.
- Hirota S, I. K. (1998). Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumours. *Science*, 279, 577-580.
- Hosoya, K., Kisseberth, W. C., Alvarez, F. J., Lara-Garcia, A., Beamer, G., Stromberg, P. C., et al. (2009). "Adjuvant CCNU (Lomustine) and Prednisone Chemotherapy for Dogs With Incompletely Excised Grade 2 Mast Cell Tumors". *Journal of the American Animal Hospital Association*, 45, 14-18.
- Howard, E. B., Sawa, T. R., Nielsen, S. W., & Kenyon, A. J. (1969). "Mastocytoma and Gastroduodenal Ulceration - Gastric and Duodenal Ulcers in Dogs with Mastocytoma". *Pathologia Veterinaria*, 6, 146-158.
- Isotani, M., Ishida, N., Tominaga, M., Tamura, K., Yagihara, H., Ochi, S., et al. (2008). Effect of Tyrosine Kinase Inhibition by Imatinib Mesylate on Mast Tumours in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 985-988.
- Jaffe, M. H., Hosgood, G., Kerwin, S. C., Hedlund, C. S., & Taylor, H. W. (2000). Deionised water as an adjunct to surgery for the treatment of canine cutaneous mast cell tumours. *Journal of Small Animal Practice*, 41, 7-11.
- Janeway C (Jr), M. R. (2002). Innate Immune Recognition. *Annual Reviews of Immunology*, 20, 197-216.
- Jensen, F., Woudwyk, M., Teles, A., Woidacki, K., Taran, F., Sara, F. M., et al. (2010). *Estradiol and Progesterone Regulate the Migration of Mast Cells from the Periphery to the Uterus and Induce Their Maturation and Degranulation*. Obtido em Fevereiro de 2011, de PlosOne: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3008683/?tool=pubmed>
- Johnson, S. E., Sherding, R. G., & Bright, R. M. (2006). Diseases of the Stomach. In S. J. Birchard, & R. G. Sherdin, *Saunders Manual of Small Animal Practice* (3 ed., 664 - 690). St Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Johnson, T. O., Schulman, F. Y., Lipscomb, T. P., & Yantis, L. D. (2002). Histopathology and Biologic Behavior of Pleomorphic Cutaneous Mast Cell Tumors in Fifteen Cats. *Veterinary Pathology*, 39, 452-457.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2004). *Histologia Básica* (10 ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Katz, H. (2002). Inhibitory receptors and allergy. *Current Opinion in Immunology*, 14, 698-704.
- Kelly, J., & Belding, B. (2010). Macroscopic grade 2 canine mast cell tumors treated with intralesional 5-fluorouracil and steroids: a pilot Study. *Proceedings of the 2010 Mid-Year Conference of the Veterinary Cancer Society* (p. 9). Las Vegas, Nevada: AB Science.
- Kitamura, Y., Go, S., & Hatanaka, K. (1978). Decrease of mast cells in W/W^v mice and their increase by bone marrow transplantation. *Blood*, 52, 447-52.
- Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., et al. (2011). Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Veterinary Pathology*, 48 (1), 147-155.
- Kiupel, M., Webster, J. D., Kaneene, J. B., Miller, R., & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2004). The Use of KIT and Tryptase Expression Patterns as Prognostic Tools for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology*, 371-377.

- Kiupel, M., Webster, J. D., Miller, R. A., & Kaneene, J. B. (2005). Impact of Tumour Depth, Tumour Location and Multiple Synchronous Masses on the Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. *Journal of Veterinary Medicine Series A* , 52, 280–286.
- Kleinschmidt, S., Meneses, F., Nolte, I., & Hewicker-Trautwein, M. (2008). Distribution of mast cell subtypes and immune cell populations in canine intestines: Evidence for age-related decline in T cells and macrophages and increase of IgA-positive plasma cells. *Research in Veterinary Science* , 84, 41–48.
- Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cör, A., & Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy Compared to Surgery for Treatment of Canine Mast Cell Tumours. *In Vivo* , 23, 55-62.
- Krishnaswamy, G., & Chi, D. S. (2005). *Mast Cells, Methods and protocols* (Vol. First). Humana Press.
- Larsen, A. E., & Grier, R. L. (1989). Evaluation of canine mast cell tumors for presence of estrogen receptors. *American Journal of Veterinary Research* , 10, 1779-80.
- LaRue, S., & Gillette, E. (2007). Radiation Therapy. In S. Withrow, & D. Vail, *Small Animal Clinical Oncology* (4 ed., 193-210). Philadelphia: Saunders.
- Lavalle, G., Araujo, R., Carneiro, R., & Pereira, L. (2003). "Punção aspirativa por agulha fina para diagnóstico de mastocitoma em cães. ". Obtido em 10 de Julho de 2010, de Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000400017&lng=en&nrm=iso
- Letard, S., Yang, Y., Hanssens, K., Palmérini, F., Leventhal, P. S., Guéry, S., et al. (2008). "Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors.". *Molecular Cancer research* , 6, 1137-45.
- Liao, A., Chien, M., Shenoy, N., Mendel, D., McMahon, G., Cherrington, J., et al. (2002). Inhibition of constitutively active forms of mutant kit by multitargeted indolinone tyrosine kinase inhibitors. *Blood* , 100, 585-593.
- Lin, T. Y., Rush, L. J., & London, C. A. (2006). Generation and characterization of bone marrow-derived cultured canine mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* , 113, 37–52.
- Lin, T.-Y., & London, C. A. (2006). A functional comparison of canine and murine bone marrow derived cultured mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* , 114, 320-334.
- Lin, T.-Y., & London, C. A. (2010). Characterization and modulation of canine mast cell derived eicosanoids. *Veterinary Immunology and Immunopathology* , 135, 118-127.
- Lin, T.-Y., Bear, M., Du, Z., Foley, K. P., Ying, W., Barsoum, J., et al. (2008). The novel HSP90 inhibitor STA-9090 exhibits activity against Kit-dependent and -independent malignant mast cell tumors. *Experimental Hematology* , 36, 1266–1277.
- Lin, T.-Y., Fenger, J., Murahari, S., Bear, M. D., Kulp, S. K., Wang, D., et al. (2010). Ar-42, a novel hdac inhibitor, exhibits biologic activity against malignant mast cell lines via downregulation Of constitutively activated kit. *Proceedings of the 2010 Mid-Year Conference of the Veterinary Cancer Society* (p. 3). Las Vegas, Nevada: AB Science.
- Lin, T.-Y., Hamberg, A., Pentecost, R., Wellman, M., & Stromberg, P. (2010). Mast cell tumors in a llama (Lama glama). *Journal of veterinary Diagnostic Investigation*, 22, 808-811.
- London, C. (2009). "Tyrosine kinase inhibitors in veterinary medicine". *Topics in companion animal medicine* , 24, 106-12.
- London, C. A., Galli, S. J., Yuukib, T., Hub, Z.-Q., Helfand, S., & Geissler, E. N. (Abril de 1999). Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Experimental Hematology* , 27, 689-697.

- London, C. (s.d.). *American Rottweiler Club*. Obtido em 2010 de Setembro de 2010, de <http://www.amrottclub.org/mct.pdf>
- London, C. (2008). *Management of canine mast cell tumours*. Obtido em 15 de Maio de 2010, de [www.ivis.org: www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/london2.pdf](http://www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/london2.pdf)
- London, C. (2010). Mast Cell Cancer. In D. J. Weiss, & K. J. Wardrop, *Schalm's Veterinary Hematology* (6ª ed., 483-490). Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- London, C., & Seguin, B. (2003). Mast cell tumors in the dog. *The Veterinary Clinics Small Animal Practice* , 33, 473-489.
- London, C., Hannah, A. L., Zadovaskaya, R., Chien, M., Kollias-Baker, C., Rosenberg, M., et al. (2003). "Phase I Dose-Escalating Study of SU11654, a Small Molecule Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, in Dogs with Spontaneous Malignancies". *Clinical Cancer Research* , 9, 2755–2768.
- London, C., PB, M., Wood-Follis, S., Boucher, J., Rusk, A., Rosenberg, M., et al. (2009). "Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision.". *Clinical Cancer Research*, 15, 3856-3865.
- Longley BJ Jr, M. G. (1993). Altered metabolism of mast-cell growth factor (c-kit ligand) in cutaneous mastocytosis. *The new England journal of medicine* , 328, 1302-1307.
- Longley, B., Tyrrel, L., & Lu, S. (1996). Somatic c-KIT activating mutation in urticaria pigmentosa and aggressive mastocytosis: establishment of clonality in a human mast cell neoplasm. *National genetics*, 12, 312-314.
- Lopez, A., Spracklin, D., McConkey, S., & Hanna, P. (1999). Cutaneous mucinosis and mastocytosis in a shar-pei. *Canadian Veterinary Journal*, 40, 881-883.
- Lu-Kuo JM, A. K. (1996). Post-transcriptional stabilization by interleukin-1b of interleukin 6 mRNA induced by c-kit ligand and interleukin 10 in mouse bone marrow-derived mast cells. *The Journal of biological chemistry*, 271, 22169-22174.
- Lux M, R. B. (2000). KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumours. *The American journal of pathology* , 156, 791-795.
- Ma, Y., Longley, B. J., Wang, X., Blount, J. L., Langley, K., & Caughey, G. B. (1999). Clustering of activating mutations in c-KIT's juxtamembrane coding region in canine mast cell neoplasms. *Journal of Investigative Dermatology* , 112, 165-70.
- Ma, Y., Longley, B. J., Wang, X., Blount, J., Langley, K., & Caughey, G. (1999). Clustering activating mutation on c-kit's juxtamembrane coding region on canine mast cell neoplasm. *Journal of investigation in dermatology* , 112, 165-170.
- Majumder, S., Brown, K., Qiu, F. H., & Besmer, P. (1988). c-kit protein, a transmembrane kinase: identification in tissues and characterization. *Molecular and cellular biology* , 11, 4896-4903.
- Malaviya, R., & Abraham, S. (2000). Role of mast cell leukotrienes in neutrophil recruitment and bacterial clearance in infectious peritonitis. *Journal of Leukocyte Biology*, 67, 841–846.
- Maltby, S., Khazaie, K., & McNagny, K. (2009). "Mast cells in tumour growth: angiogenesis, tissue remodelling and immune-modulation.". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1796, 19-26.
- Marconato, L., Bettini, G., Giacoboni, C., Romanelli, G., Cesari, A., Zatelli, A., et al. (2008). Clinicopathological Features and Outcome for Dogs with Mast Cell Tumors and Bone Marrow Involvement. *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 22, 1001–1007.
- Masivet. (2009). Masivet - The Efficacy of Targeted Therapy in Veterinary Medicine. França: AB Science. Obtido de <http://www.ab-science.com>.

- Mayer, M. (2006). Radiation therapy for canine mast cell tumors. *The Canadian Veterinary Journal*, 47, 263–265.
- McCaw, D. L., & Bryan, J. N. (2010). Photodynamic Therapy. In C. J. Henry, & M. L. Higginbotham, *Cancer management in small animal practice* (163-166). Maryland Heights, Missouri: Saunders, Elsevier.
- McLachlan, J. B., Hart, J. P., Pizzo, S. V., Staa, H. F., Gunn, M. D., & Abraham, S. N. (2003). Mast cell- derived tumor necrosis factors induces hypertrophy of draining lymph nodes during infection. *Nature Immunology*, 4, 1199 - 1205 .
- McNiel, E. A., Prink, A. L., & O'Brien, T. (2006). Evaluation of risk and clinical outcome of mast cell tumours in pug dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 4, 2-8.
- Meininger CJ, Y. H. (1992). The c-kit receptor ligand functions as a mast cell chemoattractant. *Journal of the american society of hematology* , 79, 958-963.
- Mello De Sousa, T., Figuera, R. A., Irigoyen, L. F., & Lombardo de Barros, C. S. (2006). Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. *Ciência Rural* , 36, 555-560.
- Metcalfe DD, B. D. (1997). Mast cells. *Physiological Reviews* , 77, 1033-1079.
- Metcalfe, D. D. (1991). Classification and Diagnosis of Mastocytosis: Current Status. *Journal of Investigative Dermatology*, 96, 2S-4S.
- Metcalfe, D. (2008). Mast cells and mastocytosis. *Blood - Journal of the american society of hematology* , 112, 946-956.
- Miller, D. (1995). The occurrence of mast cell tumors in young Shar-Peis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7, 360-363.
- Millward, L., Hamberg, A., Mathews, J., Machado-Parrula, C., Premanandan, C., Hurcombe, S., et al. (2010). Case report: Multicentric mast cell tumors in a horse. *Veterinary Clinical Pathology*, 39, 365–370.
- Moore, L. E., Garrett, L. D., DeBey, B., & Biller, D. S. (2002). Spinal Mast Cell Tumor in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38, 67–70.
- Morini, M., Bettini, G., Preziosi, R., & Mandrioli, L. (2004). C-kit Gene Product (CD117) Immunoreactivity in Canine and Feline Paraffin Sections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 52, 705–708.
- Mullins, M. N., Dernell, W. S., Withrow, S. J., Ehrhart, E. J., Thamm, D. H., & Lana, S. E. (2006). Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998–2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 91-95.
- Murakami M, A. K. (1995). The immediate phase of c-kit ligand stimulation of mouse bone marrow-derived mast cells elicits rapid leukotriene C4 generation through posttranslational activation of cytosolic PLA2 and %-lipoxygenase. *Journal of experimental medicine* , 182, 192-206.
- Murakami M, M. R. (1994). Prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2 couple to different transmembrane stimuli to generate prostaglandin D2 in mouse bone marrow-derived mast cells. *The journal of biological chemistry* , 269, 22269-22275.
- Murphy, S., & Brearley, M. J. (2008). Mast Cell Tumours. In D. J. Argyle, M. J. Brearley, & M. M. Turek, *Decision Making in Small Animal Oncology* (147-159). Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Murphy, S., Sparkes, A. H., Blunden, A. S., Brearley, M. J., & Smith, K. C. (2006). Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *The Veterinary Record*, 15, 287-291.

- Murphy, S., Sparkes, A., Smith, K., Blunden, A., & Brearley, M. (2004). Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. *The Veterinary record*, 154, 743-746.
- Nakamura R, S. Y. (2003). Presence and primary sequence of a high-affinity IgG receptor on canine mastocytoma (CM-MC) cells. *Immunogenetic*, 55, 271-274.
- Newman, S. J., Mrkonjich, L., Walker, K. K., & Rohrbach, B. W. (2007). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumour: Diagnosis and Prognosis. *Journal of Comparative Pathology*, 136, 231-239.
- Nocka, K., Majumder, S., Chabot, B., Ray, P., Cervone, M., Bernstein, A., et al. (1989). Expression of c-kit gene products in known cellular targets of W mutations in normal and W mutant mice--evidence for an impaired c-kit kinase in mutant mice. *Genes & Development*, 3, 816-826.
- North, S., & Banks, T. (2009). Mast Cell Tumour. In S. North, & T. Banks, *Introduction to Small Animal Oncology* (1^a ed., 183-196). Saunders - Elsevier.
- North, S., & Banks, T. (2009b). Principles of cytology and pathology. In S. North, & T. Banks, *Introduction to Small Animal Oncology* (17-23). Saunders - Elsevier.
- Northrup, N. C., Howerth, E. W., Harmon, B. G., Brown, C. A., Carmicheal, K. P., Garcia, A. P., et al. (2005). Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17, 561-564.
- O'Brien, R., & Barr, F. (2009). *BSAVA Manual of Canine and Feline Abdominal Imaging*. United Kingdom: Wiley.
- Oliveira, J. M. (2008). *Aspectos patológicos do mastocitoma cutâneo canino : Relação com características epidemiológicas e clínicas e seu valor prognóstico*. Tese de Doutorado, Universidade de Trás-os-Montes e Alto-Douro, Vila Real.
- Orkin, M., & Schwartzman, R. M. (1959). A Comparative Study of Canine and Human Dermatology. *The Journal of Investigative Dermatology*, 32, 451-466.
- Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., & Narama, I. (2002). Mast Cell Tumors of the Gastrointestinal Tract in 39 Dogs. *Veterinary Pathology*, 39, 557-564.
- Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., & Narama, I. (2007). Prognostic significance of surgical margin, Ki-67 and cyclin D1 protein expression in grade II canine cutaneous mast cell tumor. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69, 1117-1121.
- Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., & Narama, I. (2006). T-Cell Lymphoma with Eosinophilic Infiltration Involving the Intestinal Tract in 11 Dogs. *Veterinary Pathology*, 43, 339-344.
- Pakhrin, B., Kang, M.-S., Bae, I.-H., Park, M.-S., Jee, H., You, M.-H., et al. (2007). Retrospective study of canine cutaneous tumors in Korea. *Journal of veterinary Science*, 8, 229-236.
- Patnaik, A. K., Ehler, W. J., & MacEwen, E. G. (1984). Canine cutaneous mast cell tumors: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary pathology*, 21, 469-474.
- Pinello, K. C., Nagamine, M., Silva, T. C., Matsuzaki, P., Caetano, H. V., Torres, L. N., et al. (2009). In vitro chemosensitivity of canine mast cell tumors grades II and III to all-trans-retinoic acid (ATRA). *Veterinary Research Communications*, 33, 581-588.
- Pires, M. d., Travassos, F. S., & Pires, I. (2003). "Neoplasias em canídeos - Um estudo descritivo de 6 anos". *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 98, 111-118.
- Poirier, V. J., Adams, W. M., Forrest, L. J., Green, E. M., Dubielzig, R. R., & Vail, D. M. (2006). Radiation Therapy for Incompletely Excised Grade II Canine Mast Cell Tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42, 430-434.

- Pollack, M. J., Flanders, J. A., & Johnson, R. C. (1991). Disseminated malignant mastocytoma in a dog. *Journal of American Animal Hospital Association* , 27, 435–440.
- Pryer, N. K., Lee, L. B., Zadovaskaya, R., Yu, X., Sukbuntherng, J., Cherrington, J. M., et al. (2003). Proof of Target for SU11654: Inhibition of KIT Phosphorylation in Canine Mast Cell Tumors. *Clinical Cancer Research* , 9, 5729–5734.
- Rassnick, K. M., Moore, A. S., Williams, L. E., London, C. A., Kintzer, P. P., Engler, S. J., et al. (1999). Treatment of Canine Mast Cell Tumors with CCNU (Lomustine). *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 13, 601–605.
- Rassnick, K. M., Williams, L. E., Kristal, O., Al-Sarraf, R., Baez, J. L., Zwahlen, C. H., et al. (15 de Abril de 2008). Lomustine for treatment of mast cell tumors in cats: 38 cases (1999-2005). *Journal of American Veterinary Medical Associations*, 232, 1200-1205.
- Rech, R. R., Graça, D. L., Kommers, G. D., Sallis, E. S., Raffi, M. B., & Garmatz, S. L. (2004). "Mastocitoma cutâneo canino. Estudo de 45 casos". *Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecnia*, 56, 441-448.
- Reguera, M. J., Ferrer, L., & Rabanal, R. M. (2002). Evaluation of an intron deletion in the c-kit gene of canine mast cell tumors. *American Journal of Veterinary Research*, 63, 1257-1267.
- Riley, J. F., & West, G. B. (1953). The presence of histamine in tissue mast cell. *The Journal of Physiology*, 120, 528-537.
- Riva, F., Brizzola, S., Stefanello, D., Crema, S., & Turin, L. (2005). A study of mutations in the c-kit gene of 32 dogs with mastocytoma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* , 17, 385-388.
- Rodigheri, S. M., Daleck, C. R., Calazans, S. G., Fernandes, S. C., De Nardi, A. B., Cesar, J. R., et al. (2008). Neuropatia paraneoplásica associada ao mastocitoma canino. *Ciência Rural*, 38, 819-822.
- Rodríguez-Cariño, C., Fondevilla, D., Segalés, J., & Rabanal, R. M. (2009). Expression of KIT Receptor in Feline Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology* , 46, 878-883.
- Rogers, K. S. (2010). Mast Cell Disease. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7ª ed.).
- Romansik, E. M., Reilly, C. M., Kass, P. H., Moore, P. F., & London, C. A. (2007). Mitotic Index Is Predictive for Survival for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology* , 43, 335-341.
- Roskoski Jr, R. (2005 b). Signaling by Kit protein-tyrosine kinase—The stem cell factor receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , 337, 1–13.
- Rosenthal, R. (2004). *Segredos em Oncologia Veterinária*. (C. Barros, Trad.) Santana, São Paulo: 1ª.
- Roskoski Jr, R. (2005). Structure and regulation of Kit protein-tyrosine kinase—The stem cell factor receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338,1307–1315.
- Runa, S., Cavender, D., & Malaviya, R. (2007). Different approaches to study of mast cell functions. *International Immunopharmacology*, 7, 555-567.
- Rusk, A., Kinet, J., Dubreuil, P., Moussy, A., & Herminec, O. (2008). *Masitinib is Safe and Effective in the Treatment of Dogs with Measurable Grade II and III Mast Cell Tumors*. Obtido em 01 de Setembro de 2010, de Uranovet: <http://uranovet.com/img/productos/masivet/pdf/tecnicos/Poster%20masitinib%20es%20seguro%20y%20eficaz%20en%20el%20tratamiento%20de%20mastocitomas.pdf>
- Salgado, B. S., Castanheira, T. L., Paiva, M. B., & Rozza, D. B. (2010). Mastocitose Sistêmica Canina - relato de caso. 1º *Simpósio de Pós-Graduação em Ciência Animal e IX Semana de Divulgação Científica do Curso de Medicina Veterinária*, 17. Veterinária e Zootecnia.

- Scott, D. W., Griffin, C. E., & Miller Jr, W. H. (2001 C). Environmental skin diseases. In D. W. Scott, C. E. Griffin, & W. H. Miller Jr, *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (6^a ed., 1081-1083). Elsevier Health Sciences.
- Scott, D. W., Griffin, C. E., & Miller Jr, W. H. (2001 A). Neoplastic and Non-neoplastic tumors. In D. W. Scott, C. E. Griffin, & W. H. Miller Jr, *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (6^a ed., 1236-1414). Elsevier Health Sciences.
- Scott, D. W., Griffin, C. E., & Miller Jr, W. H. (2001 B). Skin Immune system and allergic skin diseases. In D. W. Scott, C. E. Griffin, & W. H. Miller Jr, *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (6^a ed., 574-601). Elsevier Health Sciences.
- Séguin, B., Besancon, M. F., McCallan, J. L., Dewe, L. L., Tenwolde, M. C., Wong, E. K., et al. (2006). Recurrence Rate, Clinical Outcome, and Cellular Proliferation: Indices as Prognostic Indicators after Incomplete Surgical Excision of Cutaneous Grade II Mast Cell Tumors: 28 Dogs (1994–2002). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 933–940.
- Sfiligoi, G., Rassnick, K., Scarlett, J. M., Northrup, N. C., & Gieger, T. (2005). Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990–2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 1368-1374.
- Simões, J., Schoning, P., & Butine, N. D. (1994). "Prognosis of Canine Mast Cell Tumors: A Comparison of Three Methods". 31, 637-647.
- Spugnini, E., Citro, G., D'Avinob, A., & Naldib, A. (2008). Potential role of electrochemotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma: First insights from preclinical studies in animals. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40, 159-163.
- Stancliff, R. M., & Gilson, S. (2008). "Evaluation of neoadjuvant prednisolone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumours in dogs". *Journal of American Veterinary Medical Association*, 232, 53-62.
- Steffey, M., Rassnick, K. M., Porter, B., & Njaa, B. L. (2004). Ureteral Mast Cell Tumor in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40, 82-85.
- Stockham, S. L., Basel, D. L., & Schmidt, D. A. (1986). Mastocytemia in dogs with acute inflammatory diseases. *Veterinary clinical pathology*, 15, 16-21.
- Strefezzi, R. D., Kleeb, S. R., Xavier, J. G., & Catão-Dias, J. L. (2009). Prognostic indicators for mast cell tumors. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 2, 101-121.
- Strefezzi, R. D., Kleeb, S. R., Xavier, J. G., & Dias, J. L. (2010). Avaliação da proliferação celular como indicador prognóstico para mastocitomas cutâneos caninos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30, 559-565.
- Sur, R. C. D. (2007). Different approaches to study mast cell functions. *International Immunopharmacology*, 7, 555-567.
- Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Matsunaga, S., Mochizuki, M., Nishimura, R., et al. (2000). Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982–1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216, 222-226.
- Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Mochizuki, M., Matsunaga, S., Nishimura, R., et al. (1997). "Inhibitory effects of glucocorticoids on proliferation of canine mast cell tumour". *Journal of Veterinary Medical Science*, 59, 995-1001.
- Takemoto, C. M., Lee, Y., Jegga, A. G., Zablocki, D., Brandal, S., Shahlaee, A., et al. (2008). Mast cell transcriptional networks. *Blood cell, Molecules, and Diseases*, 41, 82-90.
- Takeuchi, Y., Fujino, Y., Watanabe, M., Nakagawa, T., Ohno, K., Sasaki, N., et al. (2010). "Aberrant autophosphorylation of c-Kit receptor in canine mast cell tumor cell lines". Obtido em 14 de Julho de 2010, de Veterinary Immunology and Immunopathology: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/01652427>

- Taylor, F., Gear, R., Hoather, T., & Dobson, J. (2009). "Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases.". *Journal of Small Animal Practice* , 50, 284-289.
- Taylor, M. L., Dastyh, J., Sehgal, D., Sundtrom, M., Nilsson, G., Mage, R. G., et al. (2001). The Kit-activating mutation D816V enhances stem cell factor--dependent chemotaxis. *Blood* , 98, 1195-1199.
- Teske, E. (2009). Cytology of subcutaneous swellings, skin tumours, and skin lesions. Part II. *34th World Small Animal Veterinary Congress 2009*. São Paulo, Brasil: WSAVA.
- Thamm, D. H., Turek, M., & Vail, D. M. (2006). Outcome and prognostic factors following adjuvant prednisone/vinblastine chemotherapy for high-risk canine mast cell tumour: 61 cases. *The Journal of Veterinary Medical Science* , 68, 581-587.
- Thamm, D., & Vail, D. M. (2007). Mast Cell Tumour. In D. Thamm, D. M. Vail, & M. E. Withrow SJ (Ed.), *Small animal clinical oncology*. (4ª ed., 402-424). Missouri: Saunders.
- Thamm, D., Mauldin, E., & Vail, D. (1999). "Prednisolone and Vinblastine Chemotherapy for Canine Mast Cell Tumour - 41 cases (1992-1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 13, 491-497.
- Thamm, D., Rose, B., Kow, K., Humbert, M., Moussy, A., Hermine, O., et al. (2008). *In Vitro Investigation of Masitinib as a Chemosensitizer in Canine Cancer*. Obtido em 01 de Setembro de 2010, de Uranovet: <http://uranovet.com/img/productos/masivet/pdf/tecnicos/Poster%20masitinib%20como%20quimiosensibilizador%20en%20cancer%20canino.pdf>
- Theoharides, T. C., & Cochrane, D. E. (2004). Critical role os mast cells in inflammatory diseases and the effect of acute stress. *Neuroimmunol* , 146, 1-12.
- Theoharides, T. C., & Conti, P. (2004). Mast cells: the Jekyll and Hyde of tumor growth. *Trens of Imuno* , 25(5). Obtido em Agosto de 2010, de Trends in Immunology: www.sciencedirect.com
- Theoharides, T., Patra, P., Boucher, W., & Athanasiou, A. (2000). Chondroitin sulphate inhibits connective tissue mast cells. *British Journal of Pharmacology* , 131, 1039-1049.
- Tizzard, I. R. (2009). Como sé activa la inflamation. In I. R. Tizzard, *Imunologia Veterinária: una introducción* (11-27). Elsevier.
- Tsai, M., Grimbaldston, M. A., Yu, M., Tam, S. Y., & Galli, S. J. (2005). Using mast cell knock-in mice to analyze the roles of mast cells in allergic responses in vivo. *Chemical Immunology and Allergy* , 87, 179-197.
- Turin, L., Acocella, F., Stefanello, D., Oseliero, A., Fondrini, D., Brizzola, S., et al. (2006). Expression of c-kit proto-oncogene in canine mastocytoma: a kinetic study using real-time polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* , 18, 343-349.
- Tyrrel, D., & Davis, R. M. (2001). Progressive neurological signs associated with systemic. *Australian Veterinary Journal* , 79, 106-108.
- Van Gelderen, A., Archer, J., & Herrtage, M. E. (2010). Pre- and post-operative plasma histamine concentrations in 35 dogs with mast cell tumours. Obtido em Outubro 2010 de *Comparative Clinical Pathology*: <http://www.springerlink.com/content/kq95575239wq3875/>
- Voytyuk, O., Lennartsson, J., Mogi, A., Caruana, G., Courtneidge, S., Ashman, L., et al. (2003). Src Family Kinases Are Involved in the Differential Signaling from Two Splice Forms of c-Kit. *The Journal of Biological Chemistry* , 278, 9159-9166.
- Webster, J. D., Yuzbasiyan, V., Miller, R. A., Kaneene, J. B., & Kiupel, M. (2007). "Cellular Proliferation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Associations with c-KIT and Its Role in Prognostication". *Veterinary Pathology* , 44, 298-308.
- Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Thamm, D. H., Hamilton, E., & Kiupel, M. (2008). "Evaluation of prognostic markers for canine mast cell tumors treated with vinblastine and

- prednisolone*.". Obtido em 07 de Julho de 2010, de BMC Veterinary Research: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/4/32>
- Webster, J., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Kaneene, J. B., Miller, R., Resau, J. H., & Kiupel, M. (2006). The Role of c-KIT in Tumorigenesis: Evaluation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Neoplasia* , 8, 104–111.
- Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2010). *Veterinary hematology* (Vol. 6th ed). Iowa, USA: Blackwell Publishing Ltd.
- Welle, M. M., Bley, C. R., Rüfenacht, S., & Howard, J. (2008). Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology* , 19, 321–339.
- Wright, Z. M., & Chretien, J. D. (2006). Diagnosis and treatment of feline oral mast cell tumor. *Journal of feline Medicine and Surgery* , 8, 285-289.
- Yarden, Y., Kuang, W., & Yang-feng, T. (1987). Human proto-oncogene c-kit gene: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO Journal*, 6, 3341-3351.
- Yu, M., Tsai, M., Tam, S.-Y., Jones, C., Zehnder, J., & Galli, S. J. (2006). Mast cells can promote the development of multiple features of chronic asthma in mice. *Journal of clinical investigation*, 116, 1633.
- Zhang S, A. D. (1998). Human mast cells express stem cell factor. *The Journal of Pathology*, 186, 59–66.

Anexo I

Análise histopatológica

Os tecidos enviados ao laboratório, recolhidos por excisão cirúrgica, foram fixados em formol a 10%, durante pelo menos 24 horas. Posteriormente foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, diafanizados e incluídos em parafina. Dos blocos de parafina fizeram-se cortes de 5 µm de espessura num micrótomo rotativo Leica RM 2135/ Leica SM 2000R e, procedeu-se à sua coloração com Hematoxilina Eosina (HE) e Azul de Toluidina, quando necessário para auxiliar e/ou confirmar o diagnóstico, pela técnica de Dominici (Behmer, Tolosa, & Freitas Neto, 1976). Os tumores foram avaliados num microscópio Olympus BX 51 e classificados em três graus histológicos de malignidade segundo os critérios de Patnaik *et al.*, (1984) e de acordo com a classificação da OMS.